

CANCEROLOGIE

SUB REDACTIA
I. CHIRICUȚĂ

VOL. I CANCEROLOGIE GENERALĂ



EDITURA MEDICALĂ

In ultimul timp s-au realizat progrese mari în studiul bolii canceroase, considerată până nu de mult ca „marea necunoscută de neînvins a medicinei”. Descoperirile realizate în biologia moleculară, genetică, biofizică, imunologie, biochimie și alte noi ramuri ale biologiei și medicinei moderne au dus inevitabil la elucidarea multor aspecte necunoscute ale bolii canceroase.

Boala este privită astăzi ca rezultanta unui conflict între organism și mediu (extern și intern), conflict ce declanșează mecanisme biologice extrem de interesante și complexe, ce pot asigura în anumite condiții chiar vindecarea. Rezultă că nu putem trata eficient cancerul fără să cunoaștem bine mecanismele complexe biologice ale bolii.

Astăzi se poate vorbi de o profilaxie și un tratament eficace ale bolii canceroase. Drumul spre victoria finală este anevoios, plin de surprize, dar traiectoria cunoașterii este permanent ascendentă și „Everestul” problemei este întrevăzut.

Sub redacția:
PROF. ION CHIRICUȚĂ

CANCEROLOGIE

Vol. I: CANCEROLOGIE GENERALĂ

Au colaborat:

PROF. C. ARSENI, ADELA BARA, GEORGETA BOCȘAN,
OTILIA BOJAN, GH. BOLBA, PROF. I. CHIRICUȚĂ, MONICA CRIȘAN,
V. GĂDĂLEANU, NATALIA GALATĂR, T. H. GAVRILESCU,
PARASCHIVA IMREH, S. MUNTEANU, I. MUSTEA,
C. D. OLINICI, RODICA RIȘCĂ, CARMEN STUGREN,
CORNELIA TODORUȚIU-PAPILIAN, Z. URAY



EDITURA MEDICALĂ
BUCUREȘTI ● 1984

Prefață

Apariția acestei lucrări reprezintă prin complexitatea ei, o necesitate absolută, deoarece problema cancerului începe să treacă pe primul plan nu numai în domeniul sănătății publice (unde această boală reprezintă a doua cauză de mortalitate la noi și prima în alte țări), dar și în cel al cercetării științifice fundamentale, interesând toate domeniile cunoașterii științifice.

Clinica umană și veterinară, biologia generală, biochimia, biofizica, biologia moleculară, imunobiologia, genetica, endocrinologia, virusologia și multe alte discipline colaborează strâns la lămurirea enigmei cancerului. Clinicianul nu mai poate face față acestei boli, fără să-i cunoască bine aspectele biologice fundamentale. Scopul acestei lucrări este tocmai să ofere celor ce se interesează de problemă un bilanț la zi asupra aspectelor cele mai importante din biologia acestei boli.

Potrivit cunoștințelor noastre lucrarea aceasta este a patra încercare din literatura românească de a prezenta aspectele biologice generale ale cancerului sub forma unei monografii.

Prima lucrare intitulată „Boala canceroasă” (morfologie, fiziopatologie, patogenie, nosografie), Ed. Medicală, 1956, redactată de profesorul Titu Vasilin, pe acea vreme șeful laboratorului de anatomie-patologică al Institutului Oncologic Cluj, reprezenta un punct de vedere mult prea personal și original asupra problemei.

O lucrare importantă a fost „Oncologia Generală” redactată de profesorul Octav Costăchel (Ed. Medicală, 1961) care, conducând un colectiv din Institutul Oncologic București, a reușit să prezinte aspectele esențiale ale cancerului pentru acea epocă.

După un an (1962) Editura Academiei Republicii Populare Române traduce lucrarea profesorilor A. Graffi și H. Bielka din Berlin „Probleme de oncologie experimentală”, lucrare de o incontestabilă valoare documentară. De atunci au trecut 20 de ani, interval de timp în care s-au făcut noi și importante descoperiri în domeniul studiului bolii canceroase. Era necesară o nouă lucrare pentru prezentarea acestor progrese.

Originile acestei lucrări trebuie căutate în „Cursul de Oncologie Generală” pe care l-am ținut studenților I.M.F. Cluj, începând în urmă cu aproape 15 ani și pe care l-am redactat la imboldul regretatului rector O. Fodor, și care, din diferite motive, nu a putut vedea lumina tiparului la I.M.F. Cluj.

Între timp progresele acumulate în studiul oncologiei întrecuau puterea de sinteză a unui singur om, în ciuda faptului că de aproape 40 de ani mă preocupam de această problemă.

Deoarece în Institutul Oncologic Cluj-Napoca am reușit în cei aproape 27 de ani de cînd îl conduc să formez un colectiv valoros de cercetători științifici, specializați în diferitele domenii de cercetare a oncologiei, cercetători tineri și plini de energie creatoare, am considerat că amplificarea cursului meu prin colaborarea acestora nu poate decît să aducă mari servicii în acest domeniu.

Am avut posibilitatea să pot trimite cu burse în marile centre oncologice ale lumii (Franța, U.S.A., U.R.S.S., Germania, Suedia etc.) mai mulți colaboratori, care la întoarcere m-au ajutat să înființez laboratoare noi, datorită cărora am putut urmări cele mai moderne linii de cercetare. Un rol important în educarea cadrelor în problemele cercetării le-au avut și marile Institute Științifice din București, unde s-au format numeroși cercetători.

Fără contribuțiile acestor colaboratori tineri, oricît ar fi fost de didactică lucrarea și-ar fi pierdut din valoarea documentară științifică.

Desigur, îmi dau seama că lucrarea are numeroase lip-uri. Totuși, cel care o va citi va putea să-și formeze un punct de vedere modern asupra acestei probleme spinoase a biologiei.

Sper că elevii mei vor revizui lucrarea și după 10 ani o vor prezenta sub altă formă, mai aproape de miezul și înțelegerea problemei cancerului.

Mulțumesc în mod deosebit Editurii Medicale, personal Profesorului I. Teodorescu Exarcu, care m-a stimulat la scrierea acestei lucrări și i-a asigurat excelentele condiții de prezentare.

Acest tratat este conceput să apară în două volume. După volumul de Cancerologie Generală va urma inevitabil un al doilea volum, de Cancerologie Clinică, în care vom expune experiența Institutului Oncologic Cluj-Napoca, cel mai vechi institut oncologic din țara noastră și care în acest an a împlinit 55 de ani de luptă continuă contra cancerului.

Cluj-Napoca
Noiembrie, 1983

PROFESOR DR. DOC. I. CHIRICUȚA
Director al Institutului Oncologic, Cluj-
Napoca
Șeful disciplinei de oncologie I.M.F.

Tabla de materii

- I. **EPIDEMIOLOGIA BOLII CANCEROASE** — 7
 1. EPIDEMIOLOGIA BOLII CANCEROASE (*I. Chiricuță, Gh. Bolba*) — 9
 2. EPIDEMIOLOGIA CANCERULUI ÎN ROMÂNIA (*Gh. Bolba*) — 54
- II. **GENETICA ȘI MORFOLOGIA CANCERELOR UMANE** — 99
 3. GENETICA CANCERULUI UMAN (*D. Olinici*) — 101
 4. MORFOLOGIA TUMORILOR MALIGNE (*V. Gădăleanu*) — 140
 5. CITOLOGIA CANCERELOR: IMPORTANȚA PENTRU DIAGNOSTIC ÎN CLINICA TUMORILOR MALIGNE (*Natalia Galatâr*) — 184
- III. **BIOLOGIA CANCERULUI** — 203
 6. CELULA CANCEROASĂ ȘI ȚESUTUL MALIGN (*I. Chiricuță, Rodica Rișcă*) — 205
 7. PROCESUL DE METASTAZARE (*I. Chiricuță, Rodica Rișcă*) — 235
 8. BIOCHIMIA CANCERULUI (*I. Chiricuță, Otilia Bojan*) — 266
 9. ONCOGENEZA CHIMICĂ (*Otilia Bojan*) — 304
 10. ONCOGENEZA VIRALĂ (*Monica Crișan*) — 343
 11. VIRUSURILE ONCOGENE UMANE (*Monica Crișan*) — 390
 12. BACTERIILE ȘI CANCERUL (*Paraschiva Imreh*) — 421
 13. PARAZIȚII ȘI CANCERUL (*Georgela Bocean*) — 437
 14. MICOZE, MICOTOXINE ȘI CANCER (*Adela Bara, Carmen Stugren*) — 447
 15. RADIATIILE ȘI ONCOGENEZA (*I. Chiricuță*) — 460
 16. EFECTUL CANCERIGEN AL SUBSTANTELOR RADIOACTIVE NATURALE ȘI ARTIFICIALE (*Z. Uray*) — 469
 17. ALIMENTAȚIA ȘI CANCERUL (*I. Chiricuță*) — 483
 18. FUMATUL ȘI CANCERUL (*Gh. Bolba*) — 511
 19. ALCOOLUL ȘI CANCERUL (*I. Chiricuță*) — 537
 20. INFLUENȚELE HORMONALE ȘI ONCOGENEZA (*T. H. Gavrilescu*) — 548
 21. CONTROLUL CREȘTERII TUMORIALE PRIN FACTORII PRODUȘI DE TUMOAREA MALIGNĂ (*I. Mustea, T. H. Gavrilescu*) — 571
 22. IMUNOLOGIA TUMORILOR MALIGNE (*I. Chiricuță, Monica Crișan*) — 594
 23. SISTEMUL FAGOCITAR MONONUCLEAR ȘI CANCERUL (*Cornelia Todoruțiu-Papilian*) — 683
 24. METODE DE EXPLORARE A IMUNITĂȚII LA BOLNAVII CANCEROȘI (*Monica Crișan*) — 702
 25. MANIFESTĂRI ȘI SINDROAME PARANEOPLAZICE (*I. Chiricuță, T. H. Gavrilescu*) — 745
 26. MANIFESTĂRI NERVOASE PARANEOPLAZICE (*C. Arseni*) — 769
 27. MARKERI BIOLOGICI ÎN CANCER (*Rodica Rișcă, Otilia Bojan, T. H. Gavrilescu, Monica Crișan*) — 775
 28. VÂRSTA ȘI CANCERUL (*I. Chiricuță*) — 792
 29. TANATOGENEZA ÎN CANCER (*Rodica Rișcă*) — 815

IV. PREGANCERUL ȘI CANCERUL PROFESIONAL — 819

30. PREGANCERUL (*S. Munteanu*) — 821

31. CANCERUL PROFESIONAL (*I. Chiricuță*) — 854

V. PROFILAXIA CANCERULUI — 867

32. PROFILAXIA CANCERULUI (*I. Chiricuță, S. Munteanu*) — 869

VI. ADENDUM

N.B. Deoarece în perioada în care volumul s-a aflat sub tipar au apărut unele noi descoperiri științifice, cititorul le poate găsi consemnate în capitolul Adendum, la sfârșitul volumului.

1.

epidemiologia bolii canceroase

1. Epidemiologia bolii canceroase

I. CHIRICUȚĂ • GH. BOLBA

Cuprins

- 1.1. Generalități. Scurt istoric — 9
- 1.2. Epidemiologia descriptivă a cancerului — 11
 - 1.2.1. Metodologia epidemiologiei — 11
 - 1.2.2. Registrul cancerului — 13
- 1.3. Epidemiologia analitică a cancerului — 16
- 1.4. Epidemiologia unor localizări ale cancerului — 20
 - 1.4.1. Epidemiologia cancerului colului uterin — 20
 - 1.4.2. Epidemiologia cancerului sinului (la femeie) — 24
 - 1.4.3. Epidemiologia cancerului gastric — 30
 - 1.4.4. Epidemiologia cancerului colo-rectal — 36
 - 1.4.5. Epidemiologia leucemiilor — 41
 - 1.4.6. Epidemiologia limfoamelor — 47
 - 1.4.6.1. Epidemiologia limfoamelor Hodgkin — 47
 - 1.4.6.2. Epidemiologia limfoamelor maligne nehođkiniene — 49

1.1.

Generalități, scurt istoric

Prin definiție epidemiologia este studiul factorilor de răspândire a bolilor, urmărindu-se stabilirea cauzelor și condițiilor care determină sau favorizează apariția și propagarea acestor boli.

Epidemiologia cancerului este deci studiul răspândirii cancerelor în populația umană, în funcție de sex, vîrstă, profesie etc., în spațiu și timp (epidemiologia descriptivă), precum și al factorilor de risc care duc la cunoașterea acestei răspândiri (epidemiologia analitică).

Ca ramură a cercetării oncologice, epidemiologia diferă de cercetarea oncologică experimentală prin imposibilitatea reproducerii elementelor și a rezultatelor sale, epidemiologul neputînd interveni în cursul evenimentelor. El este mai degrabă un observator pasiv al „experimentelor umane”, laboratorul său fiind reprezentat de colectivitatea umană observată.

Variabilitatea extraordinară a diverselor forme de cancer de la o arie geografică la alta, de la o populație la alta a atras atenția cercetătorilor încă de multă vreme. Astfel, în 1775, medicul englez Percival Pott atrage atenția asupra posibilității apariției cancerului tegumentului scrotului la hornari. Această observație de ordin epidemiologic a deschis atît porțile etiologiei, cît

și ale posibilităților de prevenire a cancerelor. Rigoni Stern publică în anul 1844 un raport referitor la cancerul uterului și sîinului la populația feminină din Verona. În acest studiu autorul compară frecvența acestor localizări ale cancerului la femeile căsătorite și necăsătorite, arătînd relația dintre starea maritală și boală. Clemmesen apreciază că raportul menționat mai înainte ar putea fi calificat ca fiind primul studiu de epidemiologie analitică a cancerului. Amintim și lucrarea lui August Hirsch din Berlin (1864), intitulată „Manual de patologie geografică și istorică”, considerată ca primul studiu de patologie geografică a cancerului. În acest manual se subliniază ideea că deși cancerul este găsit frecvent la autopsii, aceste date nu sînt reprezentative și în consecință nu duc la cunoașterea frecvenței reale a bolii în sînul populației. Pentru cunoașterea incidenței reale este necesară aplicarea altei metodologii.

A trebuit să treacă aproape 100 de ani pînă la coordonarea unor cercetări sistematice de epidemiologie și patologie geografică a cancerului pe plan mondial — de către UICC* — în cadrul simpozionului de la Oxford din 1950.

Așa cum am arătat, în trecutul nu prea îndepărtat frecvența relativă a bolii în cadrul unor populații sau arii geografice nu era corect evaluată, aprecierea făcîndu-se fie prin compararea simplă a cifrelor brute de mortalitate, fie prin compararea unor date colectate din unități spitalicești. Fără îndoială, aceste studii, importante pentru acea perioadă (fiind utilizate și în prezent în cadrul unor țări mai puțin dezvoltate), sînt foarte vulnerabile la o analiză critică. Cifrele mortalității prin cancer au fost și sînt și astăzi frecvent utilizate ca bază de studiu în epidemiologia și patologia geografică a cancerelor, fiind mai la îndemîna cercetătorului; au însă alte lacune, care le fac improprii cercetării epidemiologice sistematice. Interesul pentru datele mortalității constă în primul rînd în tradiție, în al doilea rînd în abundență și în al treilea rînd în faptul că multe forme și localizări ale cancerului au un indice mare de letalitate (fatality-rate al autorilor englezi) reflectînd astfel suficient de corect și morbiditatea. Apoi indicatorii statistici ai mortalității nu pot fi folosiți în vederea cunoașterii tendințelor evolutive ale cancerului ca fenomen de masă, întrucît includ atît aspectul de incidență, cît și pe cel al letalității. Pe de altă parte, mortalitatea nu este indicator valabil pentru localizările sau formele de neoplazii cu letalitate redusă, ca de pildă cancerul pielii și buzelor sau forma histologică de carcinomul bazo-celular. Există și alți factori care pot contribui la distorsionarea datelor de mortalitate de comparat în vederea stabilirii tendințelor evolutive și anume: modificări survenite în metodele de diagnostic, schimbări ale clasificăției internaționale a cauzelor de boală și deces, schimbări în metodologia completării certificatelor de deces fără să mai amintim și fenomenul obiectiv de modificare a structurii populației pe grupe de vîrstă.

Din aceste motive, pentru un studiu epidemiologic corect, impresiile trebuie înlocuite cu date statistice valabile. Sursele care ne oferă asemenea date sînt multiple, iar cifrele obținute pot fi utile dacă sînt bine definite în cadrul unor parametri exacți și dacă sînt înregistrate și corect calculate. Aceste surse sînt: datele statistice demografice („vital-statistics” al autorilor englezi); anchetele pe eșantioane ale populației (prospective și retrospective); statisticele spitalelor și registrele (fișierele) de cancer.

* UICC = Uniunea Internațională Contra Cancerului

În vederea întocmirii unui studiu de patologie geografică, Dorn apreciază că trebuie să se țină seama și de alți factori: geografici (latitudine, longitudine, umiditate etc.), sociali (rasă, nivel de trai, obiceiuri etc.) și biologici (viața animală, vegetală, distribuția populației pe grupe de vîrstă etc.).

1.2.

Epidemiologia descriptivă a cancerului

Etapele unui studiu de epidemiologie descriptivă cuprind:

— definirea și delimitarea exactă a ariei geografice pentru comunitatea studiată;

— perioada de timp la care se referă observația;

— culegerea cît mai exactă și completă a datelor;

— descrierea clară a tuturor datelor disponibile privind cancerul, în ansamblu și pe localizările anatomice, fără să se omită sursele de informare, numărul de cazuri specificate doar „cancer fără alte indicații”, numărul populației;

— specificarea numărului de cazuri diagnosticate histologic sau prin alte metode, ca și cele diagnosticate numai clinic;

— numărul de cazuri de cancer depistate numai la deces. Acest aspect este foarte important, deoarece în cazul cînd peste 10% din totalul cancerelor se descoperă numai cu ocazia întocmirii certificatului de deces, se pune sub semnul întrebării valoarea tehnicii de înregistrare a cancerelor și în consecință a calității studiului epidemiologic efectuat;

— în cadrul unui studiu epidemiologic descriptiv se recomandă să se specifice nu numai localizarea de organ, ci și subdiviziunile anatomice prinse de procesul canceros. Astfel, pentru cancerul uterin este necesară specificarea de „col uterin” sau „corp uterin”; pentru cancerul intestinului precizarea segmentului afectat (colon ascendent, joncțiunea recto-sigmoidiană etc.), după cum pentru neoplasmul ficatului va trebui să se precizeze dacă este vorba de un cancer hepatic primitiv sau secundar (metastatic).

O altă condiție importantă a studiului se referă la formularea distinctă a diagnosticului histopatologic: carcinom spinocelular, adenocarcinom, reticulosarcom etc., precum și la descrierea metodei de calcul pentru demonstrarea frecvenței cancerelor.

1.2.1.

Metodologia epidemiologiei

Metodologia epidemiologiei descriptive presupune și alte condiții și anume:

— compararea datelor pentru două sau mai multe arii geografice să se facă pe materiale similare de mortalitate, morbiditate, frecvență relativă etc.;

— termenii utilizați să fie clar definiți; astfel, cînd se enunță noțiunea de cancer, se va face referirea numai la carcinoame, sarcoame, limfoame și leucemii cu excluderea totală a tumorilor benigne;

— utilizarea obligatorie a unei nomenclaturi și terminologii comune, ca de pildă „clasificarea internațională a bolilor, accidentelor și cauzelor de deces” elaborată de OMS (Organizația Mondială a Sănătății);

- menționarea eventualelor surse de eroare în materialul studiat și
- utilizarea unor informații accesorii care pot să contribuie la clarificarea studiului întreprins, ca de pildă factorii geografici.

Pentru determinarea frecvenței cancerului se utilizează următorii parametri: indicatori statistici diverși, frecvența relativă și eșantionul.

Indicatorii sînt valori care determină riscul, probabilitatea de a face boala sau de a sucomba din cauza unei boli. Exprimarea indicatorilor este diferită: indice, proporție, rată, coeficient, procent etc.

Indicele (rata) de mortalitate reprezintă raportul dintre numărul de decese și populația expusă, raportarea făcîndu-se la 100 000 locuitori de același sex sau sexe întrunite.

În cazul morbidității se utilizează în general 2 indicatori importanți și anume:

- indicele de frecvență a cazurilor noi de boală („incidence rate“ al autorilor englezi), care reprezintă numărul cazurilor noi de cancer ce apar într-o anumită perioadă de timp (de regulă un an) raportat la 100 000 locuitori de același sex sau sexe întrunite;

- indicele de frecvență globală („prevalence rate“ al autorilor englezi), care înglobează atît cazurile noi, cît și cele apărute anterior momentului de studiu în care se face recenzarea. Cu alte cuvinte aici este vorba de numărul total de cazuri de cancer în viață la un moment dat.

Pentru a putea trage concluziile cele mai corecte pe baza acestor indicatori, se cere îndeplinirea următoarelor condiții:

- populația în sînul căreia se face cercetarea să fie suficient de numeroasă. Cifra minimă a populației studiate trebuie să fie de 200 000 locuitori, iar cea optimă de 1 milion locuitori;

- populația să aibă un caracter stabil;

- în cazul utilizării unui eșantion al populației, acesta trebuie să fie reprezentativ. Eșantionul nu este numai ultima condiție de validare a unui studiu de epidemiologie și patologie geografică, ci și o modalitate de determinare a frecvenței bolii în cazul în care comunitatea nu poate fi abordată în totalitate sau cînd se studiază o populație pe o arie geografică restrînsă.

Frecvența relativă este un indicator care se referă la raportarea numerică a unei localizări la toate cazurile de cancer sau a cazurilor de cancer la totalul cazurilor de îmbolnăvire prin alte cauze.

Sursele de eroare în cazul studiilor epidemiologice se referă la cazurile de cancer „subdiagnosticate“ și „supradiagnosticate“.

În cazul mortalității noțiunea de subdiagnostic cuprinde cazurile de deces la care cauza decesului nu este specificată sau la care decesele prin cancer sînt atribuite senilității.

Subdiagnosticul în morbiditate este de fapt o eroare de diagnostic ca de pildă etichetarea unui cancer pulmonar drept tuberculoză pulmonară sau necunoașterea formelor neoplazice cu evoluție silențioasă, respectiv a cancerului care evoluează sub „masca“ altor boli.

Supradiagnosticul este etichetarea drept cancer a unor afecțiuni benigne, în care diagnosticul de neoplazie malignă este rezultatul impresiei sau al unei analize incorecte a simptomatologiei, respectiv al neutilizării unor metode potrivite de diagnostic, care să permită un diagnostic de certitudine pentru cazul dat.

Evaluarea corectă a datelor de morbiditate sau mortalitate presupune compararea acestora cu cele obținute în alte arii geografice.

Un inconvenient care intervine în această etapă a studiului epidemiologic este cel dat de structura populației pe grupe de vîrstă, structură ce diferă de la o comunitate la alta, ceea ce obligă pe cercetător să găsească un numitor comun și îl determină să calculeze o populație „standard”, la care să se raporteze cazurile de cancer înregistrate. În Franța de exemplu, „populația standard” este cea din anul 1963, în SUA populația continentală recensată în 1950, țările nordice ale Europei utilizează populația medie a Suediei, Norvegiei, Finlandei, Danemarcei și Islandei la recensămîntul din 1963, iar OMS și UICC folosesc în studiile lor structura populației medii de tip „mondial”, „european” și „african”. De ce acest lucru? Pentru că structura pe grupe de vîrstă a unei populații poate să aibă o influență deosebită asupra valorii ratelor brute, indicatorii modificîndu-se după cum se face calculul, raportarea la un tip de populație sau altul. În structura populației de tip „african” predomină grupele de vîrstă tinere, în schimb în cazul populației de tip „european” găsim o proporție crescută de vîrstnici și, după cum se știe, cancerul se întâlnește mai frecvent la persoanele de vîrstă înaintată.

Fără să intrăm în detalii, menționăm că în prima etapă a studiului populațional ratele de incidență se calculează pe grupe de vîrstă de 5 ani divizate astfel: sub 5 ani împliniți (adică grupa 0—4 ani), 5—9 ani ș.a.m.d. pînă la 85 și peste 85 de ani.

Al doilea pas este cel al extrapolării datelor la populația de tip standard (african, european, mondial). Acest procedeu, ingenios dar arbitrar, se utilizează tocmai cu scopul de a se crea o bază, cît mai sigură de calcul statistic, care să facă comparabile datele demografice ale mai multor comunități.

Și în cazul frecvenței relative pot să apară diverse denaturări tot datorită diferențelor existente în distribuția populației pe grupe de vîrstă. Așa de pildă o populație tînără va avea o rată mai crescută de cancer al oaselor și al țesuturilor moi, în schimb într-o populație de tip îmbătrînit va predomină cancerul de prostată, localizare care apare atît la persoanele de vîrstă înaintată, cît și la adulți.

O frecvență relativ crescută, deci o proporție neobișnuit de mare a unei localizări a cancerului într-o populație dată, în lipsa factorilor de eroare care ar putea influența calculul statistic, este un parametru cu valoare demonstrativă certă. Un exemplu îl constituie cancerul rino-faringian la populația chineză.

În schimb, o frecvență relativ scăzută pentru o anumită localizare anatomică a cancerului trebuie privită cu multă îndoială, deoarece factorul de eroare prin subdiagnosticare este deosebit de greu de pus în evidență.

1.2.2.

Registrul cancerului

Pentru a încheia acest capitol al epidemiologiei descriptive a cancerului vom trece succint în revistă problema „registrelor de cancer”, a valorilor ca unități specializate atît în cadrul asistenței medicale, cît și de cercetare oncologică.

Pentru a înlătura orice dubiu asupra „registrului de cancer,” această noțiune nu reflectă un simplu caiet cu file în care se înscriu date, ci reprezintă un sistem complex de colectare, înregistrare și prelucrare a datelor legate de cazurile de cancer dintr-un teritoriu sau dintr-un spital. De aici și cele două tipuri de registre ale cancerului: registrul populațional al cancerului („population-based cancer registry” al autorilor englezi, „fichier des cancers” al autorilor francezi) și registrul spitalicesc al cancerului („hospital-based cancer registry”).

În registrul populațional al cancerului:

- se colectează datele tuturor bolnavilor de cancer de la toate unitățile spitalicești din teritoriu unde sînt diagnosticați și tratați bolnavii neoplazici;
- datele de morbiditate canceroasă odată adunate sînt confruntate cu cele de mortalitate extrase din certificatele de deces;
- se realizează în acest fel o evidență exactă a tuturor cancerelor din teritoriul studiat într-o perioadă dată (de regulă un an) înlăturîndu-se înregistrările duble, după care urmează calcularea indicatorilor de incidență canceroasă, raportîndu-se numărul cazurilor noi de cancer la numărul total al populației și pe grupe de vîrstă cincinale.

După cum se vede, o condiție de bază a registrului populațional al cancerului este existența unui recensămînt al populației la anumite intervale de timp în teritoriul studiat.

Obiectivele registrului populațional al cancerului sînt:

- cunoașterea incidenței cancerului și a localizărilor anatomice ale cancerului; pe sexe, grupe de vîrstă și mediu de locuit;
- evidențierea unor schimbări a incidenței cancerului, deci cunoașterea tendințelor evolutive;
- determinarea supraviețuirii prin confruntarea deceselor cu cazurile noi înregistrate.

Din acest punct de vedere, deși metoda trialurilor (încercărilor) terapeutice constituie cea mai folosită metodă în stabilirea supraviețuirii eșantioanelor ce cuprind bolnavii tratați prin diverse procedee terapeutice, arbitrul final este supraviețuirea prin raportare la populația în întregime și care se reflectă prin scăderea mortalității.

Metodele de înregistrare sînt diferite: manuale, mecanice, electronice.

UICC — și Asociația Internațională a Registrelor de Cancer (IACR) au stabilit datele minime obligatorii pentru înregistrarea fiecărui caz în parte:

- numele sau altă dată de identificare a cazului de îmbolnăvire (numărul de identificare a asigurărilor sociale sau alte date);
- sex, vîrstă, data nașterii, starea civilă;
- domiciliul stabil și adresa (în momentul înregistrării);
- ocupația;
- diagnosticul (localizarea anatomică și stadiul);
- metoda stabilirii diagnosticului (biopsie, endoscopie, radiologie, biochimic, numai clinic);
- data stabilirii primului diagnostic de certitudine;
- data raportării cazului către registrul cancerului;
- dacă a decedat, data și cauza decesului;
- în funcție de extensia ariei geografice unde operează un astfel de registru distingem următoarele categorii de registre populaționale:

a) locale: ținutul Alameda — California (SUA), județul Cluj (România) etc.;

b) regionale: regiunea submetropolitană (Anglia), regiunea golfului San-Francisco (SUA), regiunea Banat (România) etc.;

c) naționale: Danemarca, RDG, Israel, Cuba etc. Prin generalizarea sistemului de declarare obligatorie a cazurilor noi de cancer potrivit ordinului nr. 219 din 1980 a Ministerului Sănătății, țara noastră a intrat în „clubul” restrâns al registrelor naționale de cancer.

Prin demonstrarea unor diferențe ale incidenței cancerului în cadrul populației din teritoriul servit de registrul populațional al cancerului, sau în raport cu alte arii geografice în aceeași țară, sau cu cea constatată în alte țări, se conturează ipoteze privitoare la existența unor factori etiologici în cancer. Desigur, evidențierea unor astfel de diferențieri ale incidenței cancerului nu constituie o dovadă exhaustivă și definitivă a explicării cancerogenezei, în schimb poate orienta spre noi metode și investigații pentru verificarea unor ipoteze ale cauzelor cancerului.

Sub aspectul organizării sanitare registrul populațional de cancer furnizează date prețioase de management sanitar, ca de pildă stabilirea bazei tehnice-materiale și de cadre în lupta anticanceroasă (unități ambulatorii, paturi, aparatură de diagnostic și tratament, personalul medico-sanitar necesar, acțiunile de profilaxie etc.).

Registrul spitalicesc al cancerului. După cum am văzut anterior, în afara unei populații de referință nu poate fi calculată frecvența reală, deci incidența bolii canceroase. Există totuși posibilitatea determinării importanței relative a diferitelor localizări ale cancerului în raport cu numărul total de cancere înregistrate. Calcularea acestor indicatori de frecvență relativă se face în cadrul registrului spitalicesc al cancerului, prin studierea materialelor patologice rezultate din biopsii și autopsii sau a datelor de ordin clinic. Toate aceste studii prezintă un interes deosebit, dar prin lacunele pe care le prezintă, nu pot fi evaluate corect, pot deci să ducă la interpretări greșite. Așa, de pildă, în cadrul biopsiilor, acestea se prelevează din neoplasmele cele mai accesibile, ceea ce nu înseamnă că în felul acesta se poate determina forma cea mai frecventă de cancer. În ceea ce privește autopsiile, care ca și biopsiile aduc preciziunea în diagnostic, ele reprezintă numai o parte selectivă a bolnavilor tratați, neputând oferi o imagine globală a neoplaziilor dintr-o populație dată. Structura unui centru spitalicesc major prin cazurile din cadrul registrului spitalicesc al cancerului poate să ducă de asemenea la erori de interpretare. Așa, de pildă, un centru spitalicesc de cancer profilat îndeosebi pe afecțiuni neoplazice ginecologice poate să dea un procent de 24% de cancere ale colului uterin, pe când în realitate acest procent în populația feminină din teritoriu să fie de numai 16%. Sau situația cancerului stomacului într-un asemenea centru, unde numai 1% este proporția de bolnavi internați față de 19% din teritoriu. Pentru a fi comparate, frecvențele relative trebuie corectate prin calcul, însă de regulă orice comparație de acest gen are multe semne de întrebare. Există însă și excepții, când frecvența relativă stabilită pentru o localizare este compatibilă cu realitatea, un exemplu fiind frecvența cancerului nazo-faringian la chinezii din Singapore.

Sarcinile și obiectivele registrului spitalicesc al cancerului sînt:

— colectarea datelor referitoare la bolnavul diagnosticat și tratat în unitatea spitalicească, date care se clasifică și se prelucrează, obținîndu-se elementele de bază pentru:

- dispensarizarea (supravegherea) bolnavului;
- stabilirea supraviețuirii bolnavului în funcție de stadiul clinic și metodele terapeutice aplicate;
- stabilirea necesităților tehnice-materiale și de cadre ale unității spitalicești și
- efectuarea unor schimburi de informații și/sau de organizare a unor studii de cooperare cu alte centre.

Registrul spitalicesc al cancerului există în multe țări, fiind un element important în lupta anticanceroasă, deși metodologia colectării, clasificării și controlul calitativ al datelor sau selectarea loturilor de bolnavi diferă de la spital la spital.

1.3.

Epidemiologia analitică a cancerului

Dacă epidemiologia descriptivă contribuie la stabilirea unei diferențe a incidenței cancerelor în sînul unor grupări populaționale de ordin etnic, profesional, religios sau mod de viață, diferențe ce ridică ipoteze etiologice, epidemiologia analitică nu studiază grupări mari populaționale, ci loturi restrînse de indivizi, evaluînd pentru fiecare caz în parte riscul de cancer prin expunerea sa la un anumit factor de risc.

Cercetările analitice pot fi grupate cronologic și în funcție de structura eșantionului studiat.

Din punct de vedere cronologic se disting două tipuri de cercetare analitică: prospectivă și retrospectivă.

În funcție de structura eșantionului există trei tipuri și anume:

- eșantion de tip I, cu lot populațional reprezentativ din punct de vedere statistic;
- eșantion de tip II, cu două loturi, unul expus factorului de risc, iar al doilea neexpus factorului de risc și
- eșantionul de tip III, format dintr-un lot de bolnavi de cancer și un lot martor de bolnavi fără cancer.

Aceste două categorii de cercetare analitică permit stabilirea a 5 feluri de studii de epidemiologie analitică și anume: studii prospective cu eșantion de tip I și II și studii retrospective cu eșantion de tip I, II și III.

Studiile prospective și retrospective au contribuit la identificarea unor grupuri de risc în sînul populației ca de pildă cel al vopsitorilor de anilină în cazul cancerului vezicii urinare sau de fumători în cancerul bronho-pulmonar.

Ratele de incidență specifice vârstei, exprimate sub formă de grafice, pot da unele indicații în legătură cu etiologia unor localizări ale cancerului.

Aspectul curbei tip I, este caracteristic în cazul existenței unor factori cancerigeni externi, care acționează de-a lungul întregii vieți, ca de pildă cancerul bronho-pulmonar sau gastric.

În figura tip II, evoluția ascendentă a curbei s-ar explica prin acțiunea puternică a factorilor cancerigeni exercitată în prima perioadă a vieții, iar declinul curbei presupune mai multe posibilități:

- diminuarea expunerii la factorii exogeni de risc;
- eliminarea, prin deces, a indivizilor susceptibili;

- schimbarea caracteristicilor gazdei, deci modificarea factorilor endogeni, ca de pildă menopauza în cancerul colului uterin;
- deficiențe de înregistrare a cazurilor, survenite îndeosebi la persoanele în vârstă înaintată.

CC. STOMAC - MORTALITATE / 100000 MASCULIN ROMÂNIA - 1975 CC. COL UTERIN - MORTALITATE / 100000 FEMEI ROMÂNIA - 1975

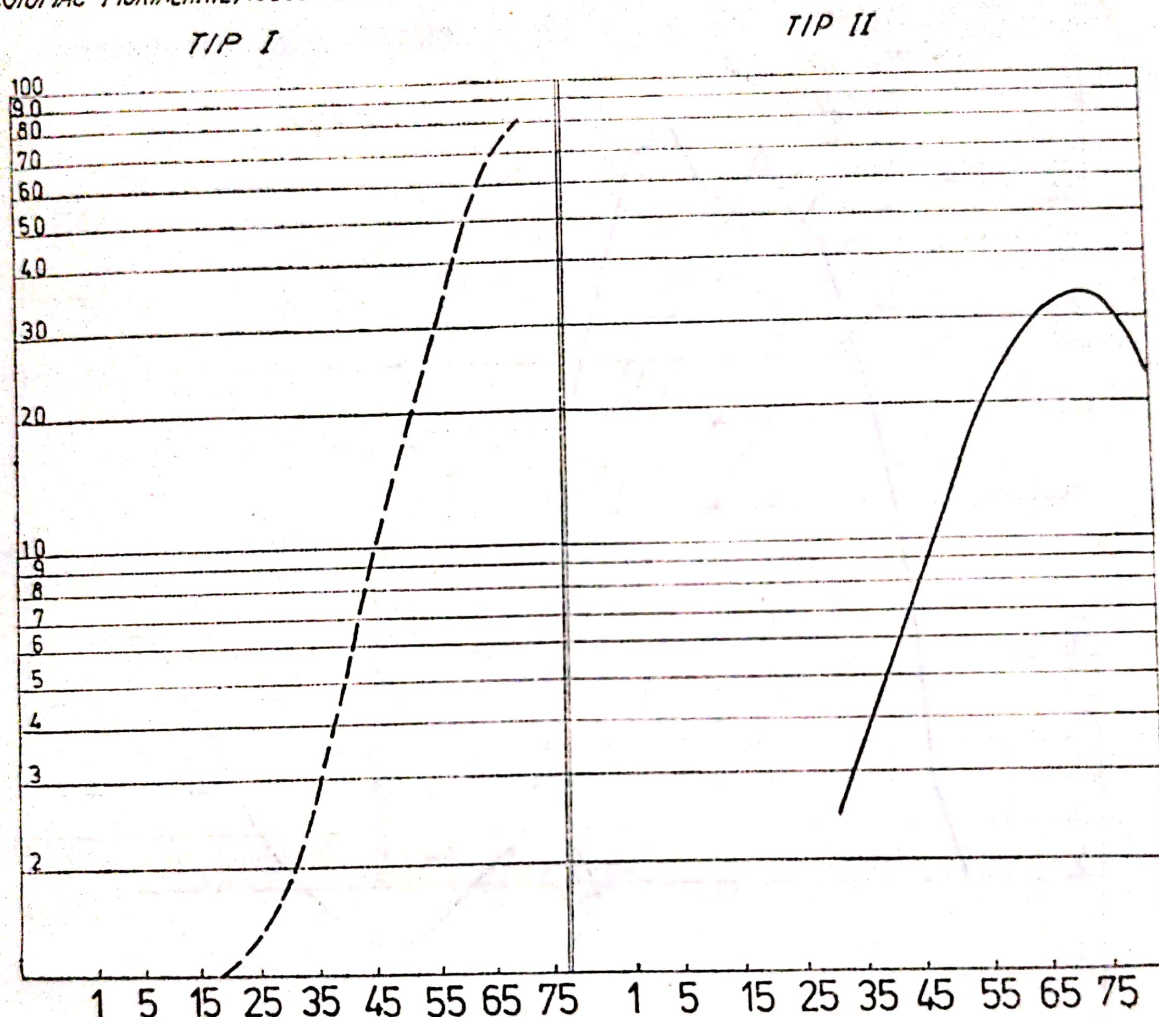


Fig. 1.1. — Curbă de distribuție, pe grupe de vîrstă, tip I (cancerul stomacului) și tip II (cancerul colului uterin).

Curba bimodală de tip III este caracteristică cancerului sînului la femeie, sugerînd existența a doi factori de risc ce activează unul în perioada vîrstei tinere și altul la o vîrstă înaintată, sau o altă explicație în sensul existenței a două tipuri de cancer al sînului: unul hormonodependent, ce ar explica declivitatea curbei după menopauză și altul degenerativ, cu o curbă ascendentă de tip exponențial. Suprapunerea acestor două curbe dă imaginea de distribuție bimodală a populației feminine cu cancer al sînului.

Curba din figura tip IV, caracteristică leucemiilor, cu un vîrf maxim în prima copilărie, urmată de o ușoară declivitate și apoi o creștere o dată cu vîrsta, poate sugera o etiologie virală datorită unui status imunitar deficitar al copilului mic.

Studiul epidemiologic pe cohorte (contingente). Dacă ratele specifice vîrstei se referă la fiecare grup de vîrstă în momentul efectuării studiului, deci indi-

ferent de data nașterii cazului studiat, evoluția cancerelor poate fi analizată și pe contingente, adică urmărind evoluția fiecărui grup de persoane născut la o anumită dată.

Dacă factorii cancerigeni ar fi răspândiți peste tot la fel într-o anumită perioadă de timp, nu ar trebui să existe nici o diferență între ratele de inci-

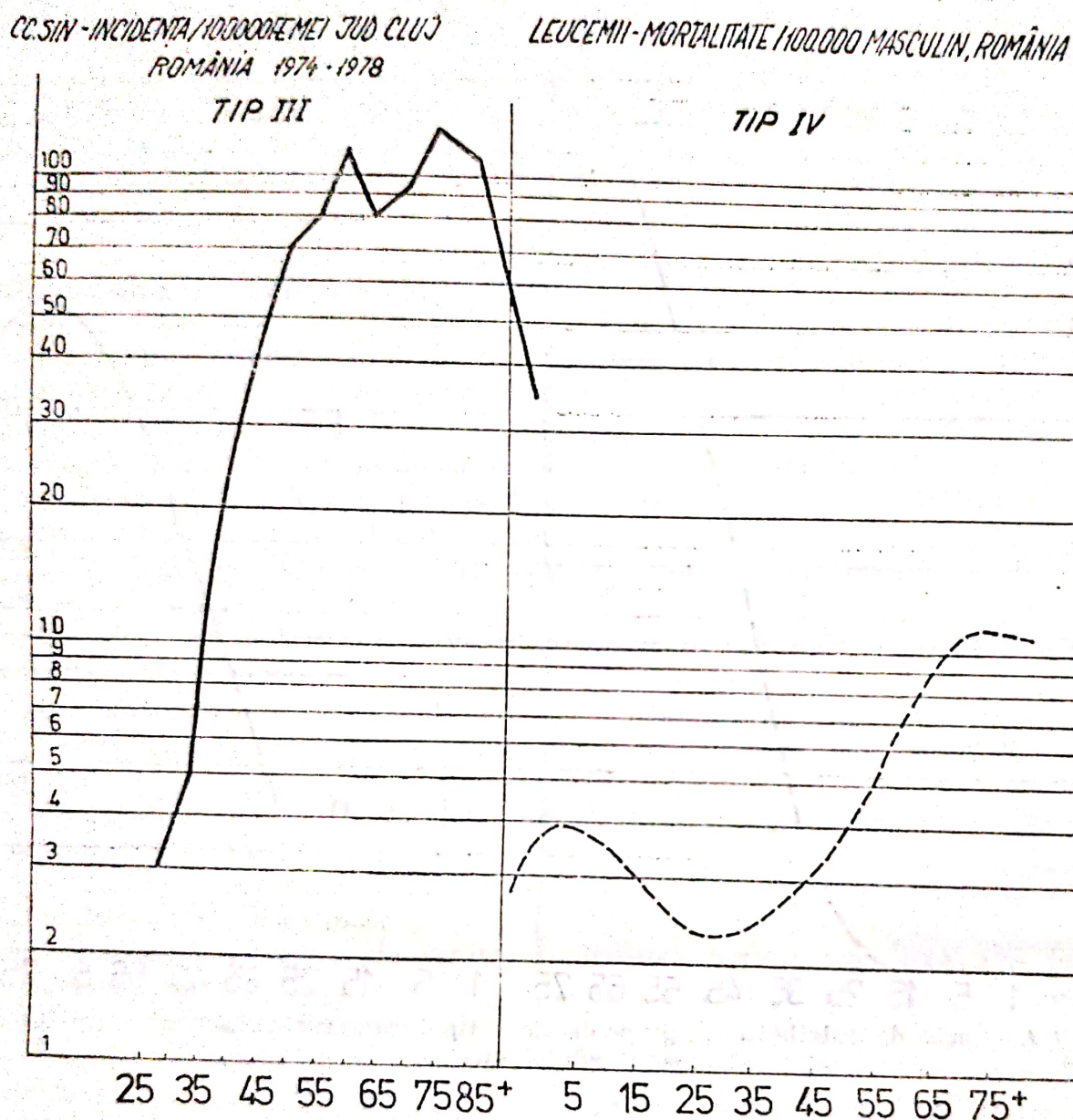


Fig. 1.2. — Curbă de distribuție, pe grupe de vîrstă, tip III (cancerul sinului la femeie) și tip IV (leucemi).

dență ale cohortelor, iar curbele grafice ale ratelor specifice vârstei ar trebui să fie paralele, deși distanțate ca timp. Cu alte cuvinte nivelul curbei grupei de vîrstă de 25 ani a indivizilor născuți în 1910, deci în anul 1935, ar trebui să fie la nivelul din anul 1945 al grupei celor născuți în 1920. Ori, situația reală este diferită cînd se fac asemenea analize pe cohorte. Așa de pildă evoluția cancerului bronho-pulmonar pe cohorte are cu totul alt aspect decît cel descris ipotetic anterior, demonstrînd existența unui factor de risc care-și pune amprenta din ce în ce mai mult pe contingentele succesive. În fig. 1.3, care reprezintă mortalitatea pe cohorte a cancerului bronho-pulmonar în Anglia și Țara Galilor, se vede clar că nivelul mortalității la vîrsta de 50 ani,

de exemplu, este mai crescut la cei născuți în 1901 în raport cu cei născuți în anul 1896, care la rândul lor depășesc mortalitatea contingentului din 1891 ș.a.m.d., ceea ce înseamnă că în timp a avut loc o creștere a factorului de risc în apariția cancerului bronho-pulmonar și anume fumatul.

MORTALITATEA PRIN CANCER PULMONAR PE COHORTE ÎN ANGLIA ȘI ȚARA GALILOR (BĂRBAȚI)

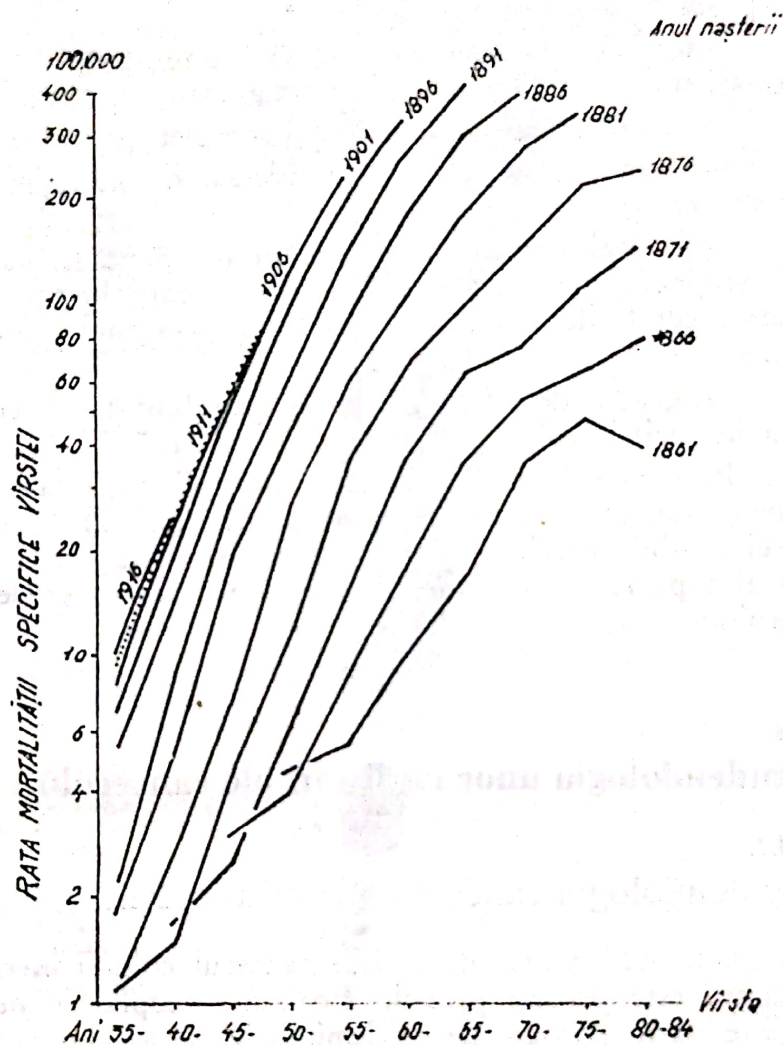


Fig. 1.3. — Curba de distribuție, pe grupe de vîrstă, a cohortelor.

(Sursa: LUNG CANCER IN WESTERN EUROPE, 1972.)

Studiul grupurilor populaționale de emigranți constituie de asemenea un obiectiv al epidemiologiei analitice a cancerului.

Riscul emigranților de a se îmbolnăvi de cancer diferă de obicei de cel al populației gazdă. Prima întrebare care se pune ca urmare acestei constatări este dacă acest fenomen este dat de factorii de mediu sau de constituția genetică a emigranților.

Teoretic, dacă ar acționa factorul genetic, acesta nemodificându-se, generațiile viitoare ale emigranților ar prezenta o mortalitate prin cancer la nivelul determinat pentru antecesori.

Practic, se constată că pe măsura trecerii timpului, generațiile viitoare de emigranți tind să „adopte” mortalitatea caracteristică populației țării gazdă,

situație dovedită în SUA de pildă, ca urmare a studiilor făcute asupra populației de emigranți japonezi stabiliți în SUA, privitor la cancerul stomacului și prin aceasta dovedindu-se influența vădită a factorilor mediului extern.

Nu aceeași situație s-a constatat în legătură cu cancerul sînului la japonezele emigrate în SUA comparativ cu cele trăind în Japonia, între aceste două grupuri de femei japoneze neexistînd diferențe semnificative în privința ratelor de morbiditate, ceea ce ar pleda pentru existența unor factori genetici în producerea cancerului sînului.

Interpretarea acestor constatări este destul de complexă și dificilă în același timp, dat fiind faptul că emigranții:

- nu se integrează imediat și complet în noul mediu de locuit;
- rămîn atașați, cel mai adesea, de obiceiurile lor îndeosebi cele alimentare;
- numai rareori constituie un lot populațional reprezentativ al țărilor de origine, fiind fie tineri și sănătoși veniți în țara gazdă pentru a-și îmbunătăți condițiile materiale, sau fiind persoane dislocate de persecuții și războaie;
- gradul de adresabilitate și accesibilitate la serviciile medicale este mult scăzut decît la cel al populației țării gazdă.

Problema factorilor de risc multipli cu acțiune sinergică în declanșarea cancerului, ca de pildă fumatul de țigarete plus expunerea la azbest, și cea a unei posibile corelații dintre virusuri și cancerele apărute la om va fi tratată în altă parte și sub aspect metodologic pentru epidemiologia analitică a cancerului.

1.4.

Epidemiologia unor localizări ale cancerului

1.4.1.

Epidemiologia cancerului colului uterin

Din acest punct de vedere cancerul colului uterin ocupă o poziție privilegiată: este printre primele localizări neoplazice pentru care au fost întreprinse studii serioase de epidemiologie, ce au dus la descoperirea unor factori etiopatogenetici, așa-numitele „variabile de risc”, de unde și posibilitatea unor măsuri eficiente de profilaxie.

Patologia geografică a cancerului colului uterin semnalează două aspecte majore:

- răspîndirea inegală a acestuia, cu zone geografice în care morbiditatea prin această boală este mult mai ridicată în raport cu altele. Din nefericire datele de morbiditate lipsesc acolo unde nu există registre de cancer la nivel național, fiind obligatorie de aceea utilizarea datelor de mortalitate. Din acest punct de vedere România se plasează printre țările cu o mortalitate ridicată. Ultimele statistici ale OMS clasează România printre primele locuri din lume;
- ponderea cancerului colului uterin în cadrul celorlalte neoplazii în general, ca și în raport cu alte localizări ale cancerului sferei genitale feminine marchează o tendință la scădere.

Un scurt istoric al problemei menționează anul 1842, când Rigoni-Stern semnalează că incidența cancerului colului uterin este mult mai mare la femeile căsătorite decât la cele necăsătorite, lipsind aproape complet la virgine. În jurul anilor 1940 interesul pentru această localizare neoplazică este

FEMEI

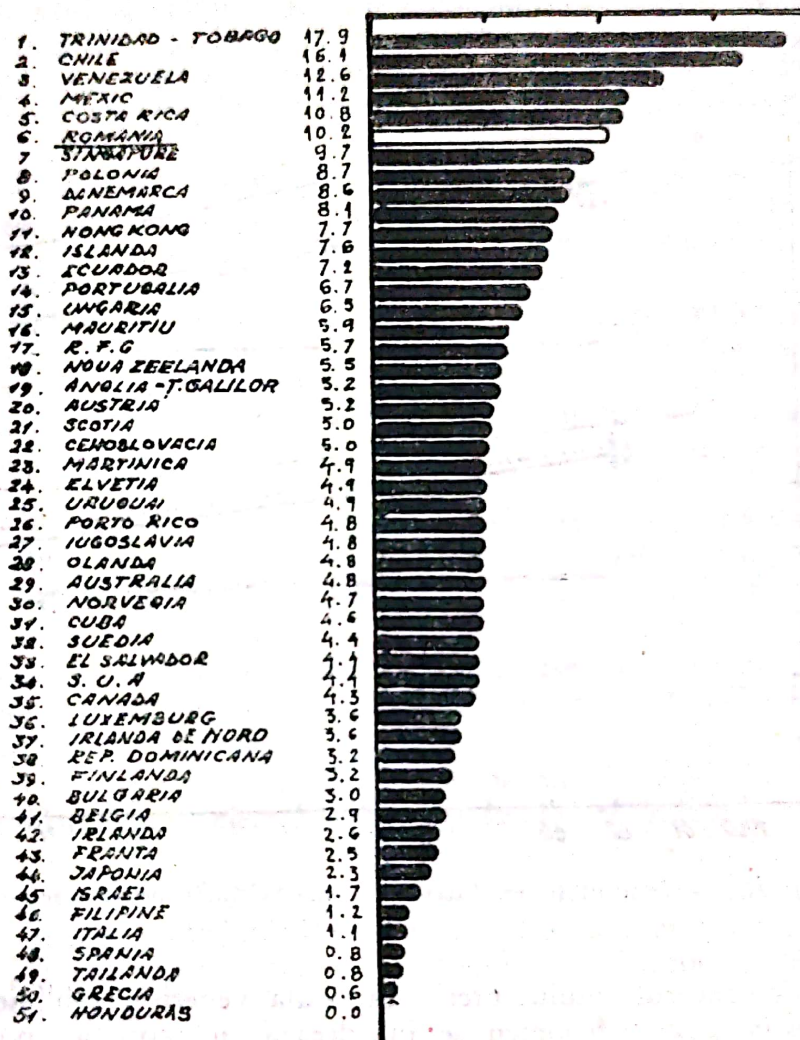


Fig. 1.4. — Cancerul colului uterin — mortalitatea specifică vârstei în 51 de țări ale lumii, 1974.

(SURSA: SEGI - modificat)

reactualizat prin unele încercări de carcinogeneză experimentală, pentru ca în al 6-lea deceniu să-și facă apariția primele studii mai importante de patologie geografică (Dorn-Cutler, 1958; Ceaklin, 1963; Wynder, 1956). În acest timp își face loc ideea *sexualității ca factor posibil de risc*; au rezultat cel puțin două constatări importante din punct de vedere etiopatogenic: debutul vieții sexuale (vârsta la căsătorie) și igiena sexuală deficitară, carcinogenitatea posibilă a smegmei și rolul protector posibil al circumciziei sau al unor metode anticoncepționale (opercule, diafragme, prezervative).

A treia etapă de cercetare în domeniul epidemiologiei acestei localizări începe în jurul anului 1960, plecând de la recunoașterea *actului sexual*, mai exact debutul precoce al acestuia și contactul cu parteneri sexuali multipli, ca

fiind evenimentul pivot în stabilirea riscului de îmbolnăvire. Această ipoteză este în prezent axată pe ideea transmiterii de la partenerul sexual către femeie a unui agent carcinogen identificat de majoritatea cercetătorilor ca fiind virusul herpetic simplex de tip II (genital). Din acest motiv unii autori consi-

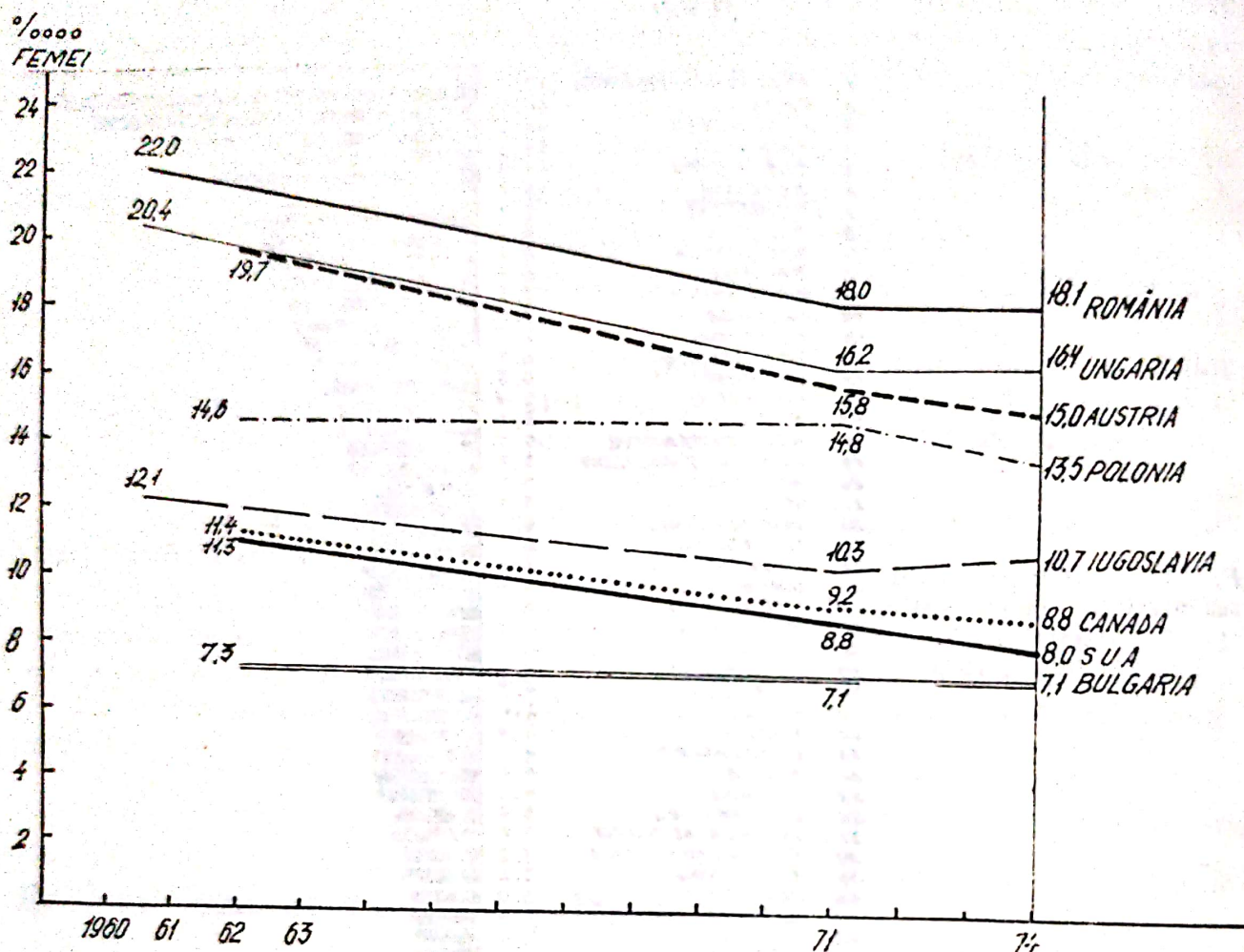


Fig. 1.5. — Tendințele evolutive ale mortalității prin cancerul uterin (toată părțile) în câteva țări.

deră cancerul colului uterin ca boală venerică, subliniere oarecum exagerată. Oricum, acest fenomen se încadrează în expresia „poluării sexuale”, factor epidemiologic specific.

Rolul igienei genitale sexuale deficitare. Încă de mult a fost remarcat faptul că neoplasmul colului uterin este practic absent la virgine. În schimb numeroși autori atestă o incidență ridicată a acestei boli la femeile cu viață sexuală agitată, cu debut precoce, parteneri sexuali multipli, căsătorii numeroase (divorțuri), incidență crescută a bolilor venerice (prostituție) etc. La polul opus se situează observațiile incidenței scăzute la anumite grupe populaționale (etnice și/sau religioase) la care viața sexuală, de obicei austeră, este mai ordonată și legată de anumite practici rituale și precepte stricte igienice, ca de pildă la evreice habotnice, la musulmane etc. Majoritatea acestor studii recunosc un factor comun transmisibil prin contact sexual în condiții de igienă precară și la o vîrstă foarte tînră. În felul acesta au fost puse în discuție, cu rol de vehiculant, smegma sau chiar sperma, iar cu rol protector circumcizia. Ideea carcinogenității smegmei și rolul protector posibil al circumciziei

sînt bazate pe observația lui Casper, care constată o incidență de 10 ori mai mică a cancerului colului uterin la populația de rit mozaic decît la populația nemozaică din Statele Unite și de 30 de ori mai mică decît la populația portorică. Studii ulterioare pe loturi comparative de bolnave și martore sau pe alte grupe populaționale (exemplu populația Parse din India) prezintă la fel o incidență scăzută a cancerului colului uterin, fără ca partenerii bolnavelor să practice circumcizia, negîndu-se prin aceasta importanța atribuită acestor factori carcinogeni și îndeosebi carcinogenitatea smegmei, reținînd doar importanța igienei sexuale și genitale ca factori protectori și rolul posibil al unui agent transmisibil prin contact sexual ca factor declanșator al carcinogenezei cervicale.

Ipoteza acțiunii mutagene sau cancerigene a spermei nu este suficient documentată. Potrivit unei cercetări analitice australiene, prezența crescută a protaminei în raport cu histona, proteine aflate în capul spermatozoidului, ar putea iniția modificări neoplazice ale mucoasei uterine.

Rolul factorilor virali și bacterieni. Înainte ca ipoteza virală să cîștige ponderea pe care o are în prezent, semnalăm unele observații premergătoare:

— la om există incontestabil unele neoplazii de origine virotică: verucile și condiloamele acuminat dintr-un grup de tumori benigne, limfomul Burkitt (virusul Epstein-Barr), carcinomul nazo-faringian (un herpes virus) etc. dintre tumorile maligne;

— au fost observate unele manifestări ale prezenței virusului în epiteliul cervical, acele „halo-cells” descrise de Ayre în unele leziuni displazice ale colului uterin. Di Virgilio aduce clar în discuție rolul unui virus în carcinogeneza cervicală.

După aceste constatări preliminare au urmat numeroase studii care și-au concentrat atenția asupra virusului herpetic simplex de tip II (VHS—II). Cercetările au urmărit următoarele aspecte:

— depistarea infecției herpetice la diferite grupe de populație prin studii morfologice (citologice, histologice), electronoptice și serologice (radio-imuno-enzimatic);

— demonstrarea răspîndirii infecției prin contact sexual, demonstrîndu-se că prevalența infecției herpetice evoluează paralel cu promiscuitatea sexuală, iar contaminarea cu VHS—II este cu atît mai frecventă, cu cît debutul vieții sexuale are loc la o vîrstă mai tînră;

— demonstrarea asocierii infecției herpetice atît cu leziunile care preced cancerul invaziv, cît și cu neoplasmul invaziv al colului uterin.

Concluzia tuturor acestor studii este că infecția herpetică asociată cu o vîrstă tînră reprezintă factorul inițiator al carcinomei cervicale la femeie, care, cum susțin Berenblum și Rotkin, s-ar desfășura în etape (ipoteza genezei multistadiale a cancerului colului uterin):

— inițierea carcinogenezei ar avea loc la o vîrstă tînră prin interacțiunea dintre agentul viral și epiteliul cervical incomplet maturizat, nepregătît filogenetic pentru o viață sexuală permanentă;

— perioada de latență cu leziune cervicală staționară, reversibilă în funcție de gradul de gravitate al leziunii și eventual de încetarea acțiunii virale, etapă care poate dura 11—20 ani;

— cancerizarea propriu-zisă are loc sub acțiunea unui factor promotor, care poate să fie sau o nouă infecție virotică, sau o tulburare hormonală.

1.4.2.

Epidemiologia cancerului sînului (la femeie)

Cancerul sînului la femeie este una din neoplaziile cele mai studiate, prezentînd un excepțional interes epidemiologic.

Cele mai recente date statistice ne arată că în țările situate în nord-vestul Europei și în America de Nord cancerul sînului reprezintă a 5-a parte (20%) din decesele în toate localizările cancerului la femeie, respectiv 4% din toate cauzele de deces.

Un studiu OMS (Logan) estimează că $\frac{1}{4}$ de milion de femei decedează anual pe glob datorită cancerului sînului. Noi am calculat că în 50 de țări ale lumii, care dețin și comunică date statistice fiabile de mortalitate, cifra deceselor în anul 1971 se ridică la peste 105 000 de femei.

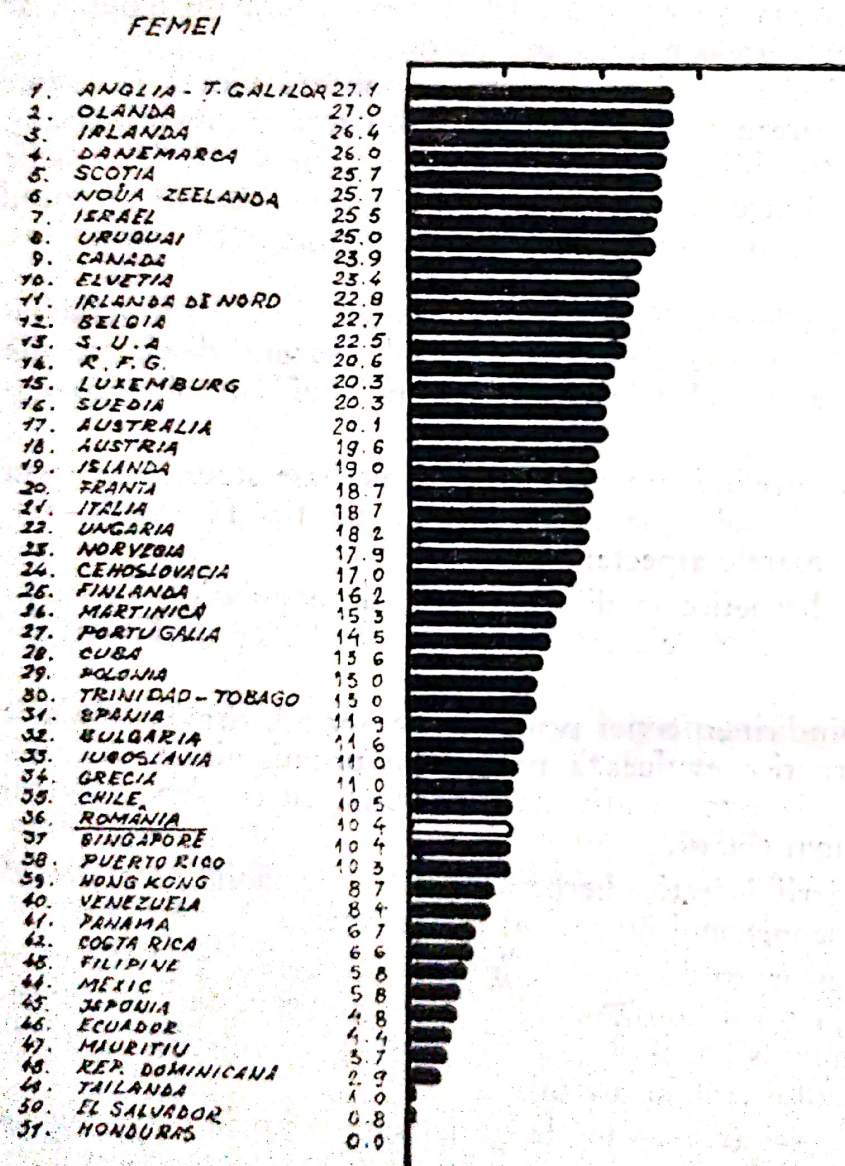


Fig. 1.6. — Cancerul sînului — la femeie — mortalitatea specifică vârstei în 51 de țări ale lumii, 1974.

Observații îndelungate privind mortalitatea prin cancer al sînului în 45 țări permit gruparea acestora în trei categorii:

- cu rată înaltă (crescută) peste 25‰ femei (ex.: Anglia și Țara Galilor, Danemarca, Scoția);

— cu rată medie (mijlocie) între 10—24‰ (ex.: Australia, Cehoslovacia, SUA);

— cu rată joasă (scăzută) sub 10‰ (ex.: Venezuela, Mexic, Japonia).
România se situează în partea inferioară a grupei medii.

Deosebirile constatate nu sînt determinate numai de diferențele structurii pe grupe de vîrstă a unor populații sau de gradul de precizie privind înregistrarea cazurilor. Există încă factori epidemiologici care contribuie la aceste diferențe și care sînt analizați în continuare.

Cartograma Europei (fig. 1. 7) vine în sprijinul concepției lui Lea privind corelația negativă dintre temperatura mediului ambiant și răspîndirea geografică a cancerului sînului. Astfel, observăm diferențe substanțiale între țările din nord-estul Europei și cele din sud-est, după cum există diferențe

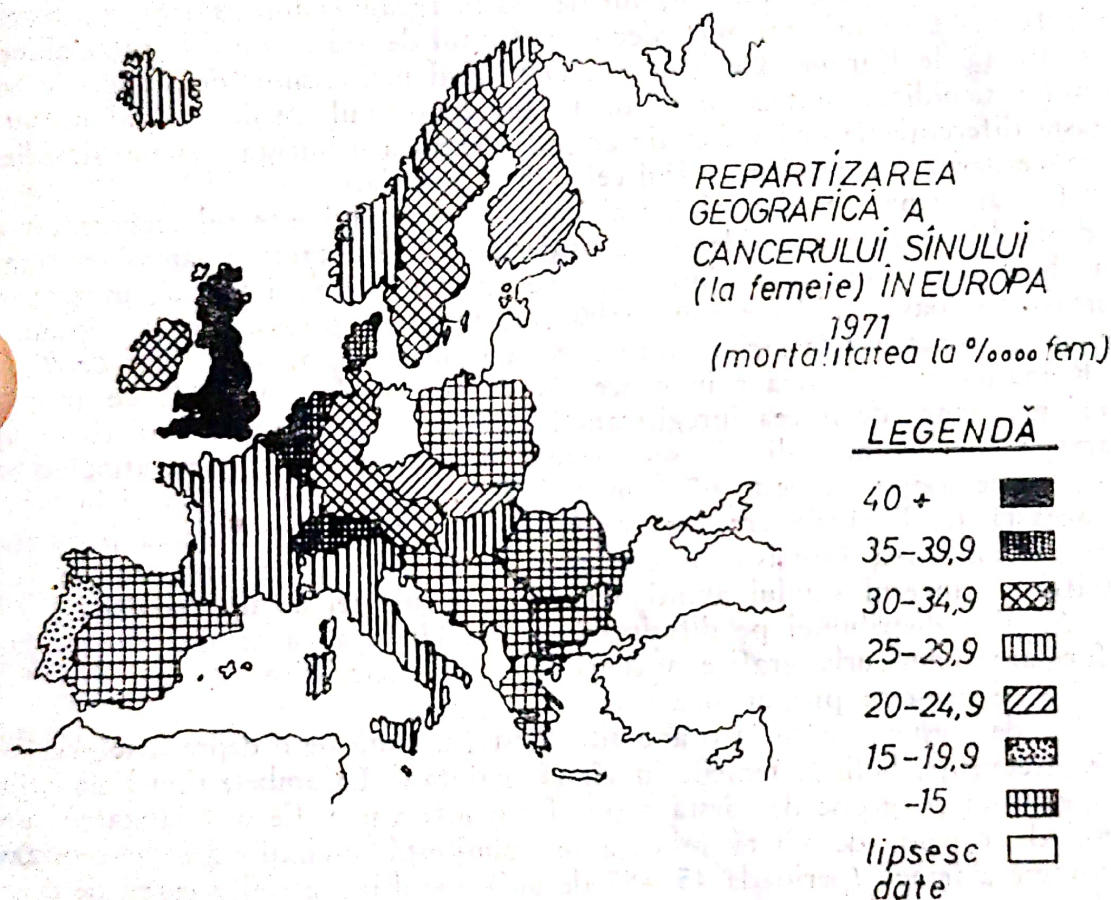


Fig. 1. 7. — Repartizarea geografică a mortalității prin cancerul sînului — la femeie — în Europa, 1971.

între țările Americii de Nord și țări ale Americii Centrale sau de Sud. Fără îndoială că nu se poate atribui temperaturii mediului extern un rol etiologic, acest factor trebuind să fie corelat cu cel comportamental în materie de reproducție umană. Un argument ar fi fertilitatea mai crescută în regiunile cu climă caldă, condiție de risc scăzut pentru îmbolnăvirea de cancer al sînului; Logan și alții constată frecvența crescută a cancerului sînului la celibatate, în raport cu femeile căsătorite, la cele cu copii, în raport cu cele nulipare. A fost reținut și faptul privitor la durata alăptării, factor care ar explica scăderea incidenței cancerului sînului la femeile din Japonia, care își alăptează copiii

cel puțin un an. Mac Mahon, citat de Logan, consideră că un factor de protecție pentru femeie față de această boală ar fi prima sarcină dusă la termen la o vîrstă tînă. Un risc scăzut l-ar reprezenta și nașterea unui copil de către o femeie avînd vîrsta sub 20 de ani, riscul crescînd progresiv pentru femeile care nasc primul copil după vîrsta de 30 de ani.

Un alt factor de mediu în cancerogeneza sînului este cel socio-economic, manifestîndu-se în obiceiuri alimentare și exprimat în starea de nutriție a populației. Frecvența mai crescută a cancerului sînului la grupurile de populație cu nivel de trai ridicat se poate explica prin acțiunea determinată de un consum abundent de alimente hipercalorice, cu conținut bogat de lipide și hidrați de carbon, metabolismul steroizilor interferînd funcția suprarenalelor și ovarelor. Cercetînd relația tiroidă-prolactină la femeile din Japonia și Anglia, Hayward, Bulbrook și alții, găsesc un conținut de iod în regimul alimentar al japonezelor de la 10 la 50 de ori mai mare decît conținutul de iod existent în rația alimentară din țările Europei Occidentale. Dat fiind mecanismul de sinteză a hormonului tiroidian, sinteză dependentă de conținutul de iod al alimentelor, această diferență de ordin dietetic ar putea explica influența funcției tiroidiene în cancerogeneza sînului în cadrul celor două populații.

Un alt aspect epidemiologic al cancerului sînului este cel reprezentat de tendința la creștere a incidenței, considerînd că letalitatea a rămas constantă sau chiar a diminuat. Dar indiferent de apartenența unei țări la un grup cu mortalitate joasă, mijlocie sau înaltă, mortalitatea prin cancer al sînului a crescut în toate aceste țări în ultimii 50 de ani de 2, 3, 4, și chiar de 9 ori. În România mortalitatea prin cancer al sînului era în anul 1972 de aproape 4 ori mai mare decît cea înregistrată în 1935, iar în Japonia, țară cu o rată foarte scăzută a mortalității, se constată o tendință de creștere atîngînd un nivel ce depășește cu peste 60% mortalitatea înregistrată cu 20 ani în urmă. În această tendință de creștere contribuie nu numai îmbătrînirea populației sau îmbunătățirea înregistrării cazurilor, ci și alți factori care trebuie încă descifrați, cancerul sînului avînd o curbă a incidenței de tip deosebit.

Analiza distribuției pe diferite grupe de vîrstă a cancerului sînului duce la formarea unei curbe grafice cu două aspecte caracteristice:

- de creștere proporțională cu vîrsta și
- de creșterea pînă la o anumită vîrstă, urmată de o depresiune prin scăderea frecvenței bolii la femeile în vîrstă înaintată. La ambele tipuri ale curbei de frecvență pe grupe de vîrstă apare fie o inflexiune, fie o aplatizare, corespunzînd grupelor de vîrstă în care se manifestă oscilații ale homeostaziei endocrine a femeii (perioada 45—55 de ani), rezultînd astfel o curbă de distribuție cu caracter bimodal. Acest aspect s-ar putea explica prin ipoteza existenței a două mecanisme de cancerizare a sînului:

- unul cu caracter distrofic, care ar acționa toată viața și
- altul cu caracter hormono-dependent, care ar explica deflexiunea curbei în perioada grupelor de vîrstă suprapuse schimbării profilului hormonal al femeii.

Alt fenomen care a suscitat un interes deosebit este vîrful de incidență atins la menopauză de femeile avînd o rată mare de îmbolnăvire, așa-zisul „menopausal hook” descris de Clemmessen, care consideră că fenomenul se datorește modificărilor hormonale ori ovariene survenite în menopauză.

Din datele prezentate rezultă că funcția ovariană trebuie să joace un rol important în geneza cancerului mamar, chiar dacă nu se cunoaște exact care

EVOLUTIA MORTALITĂȚII (RATA „BRUTĂ”) CANCERULUI SÎNULUI ÎN UNELE ȚĂRI.

Grafic executat după date din,
„O.M.S. CHRONIQUE” nr 12/1975.
(EXCEPȚIE ROMÂNIA)

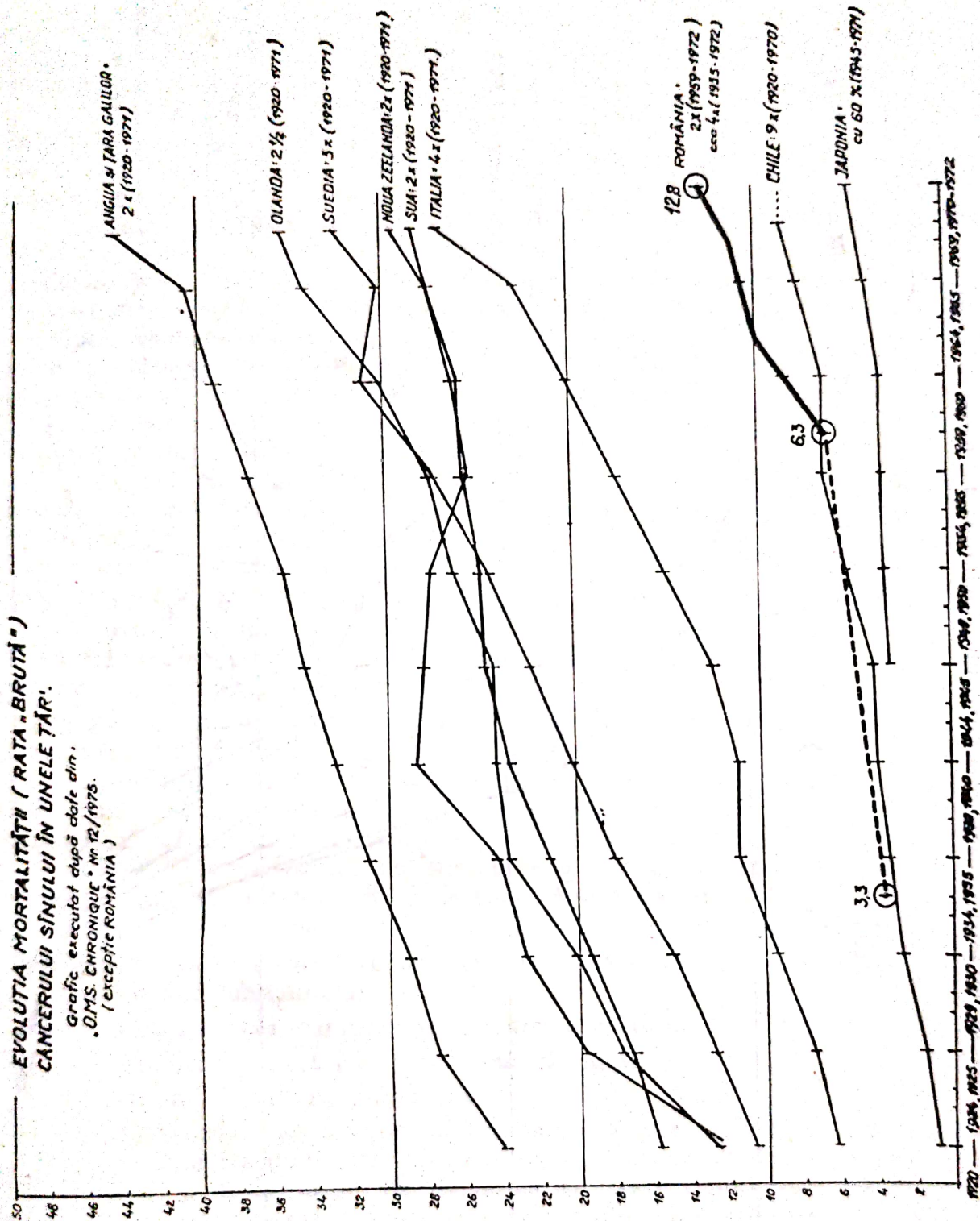
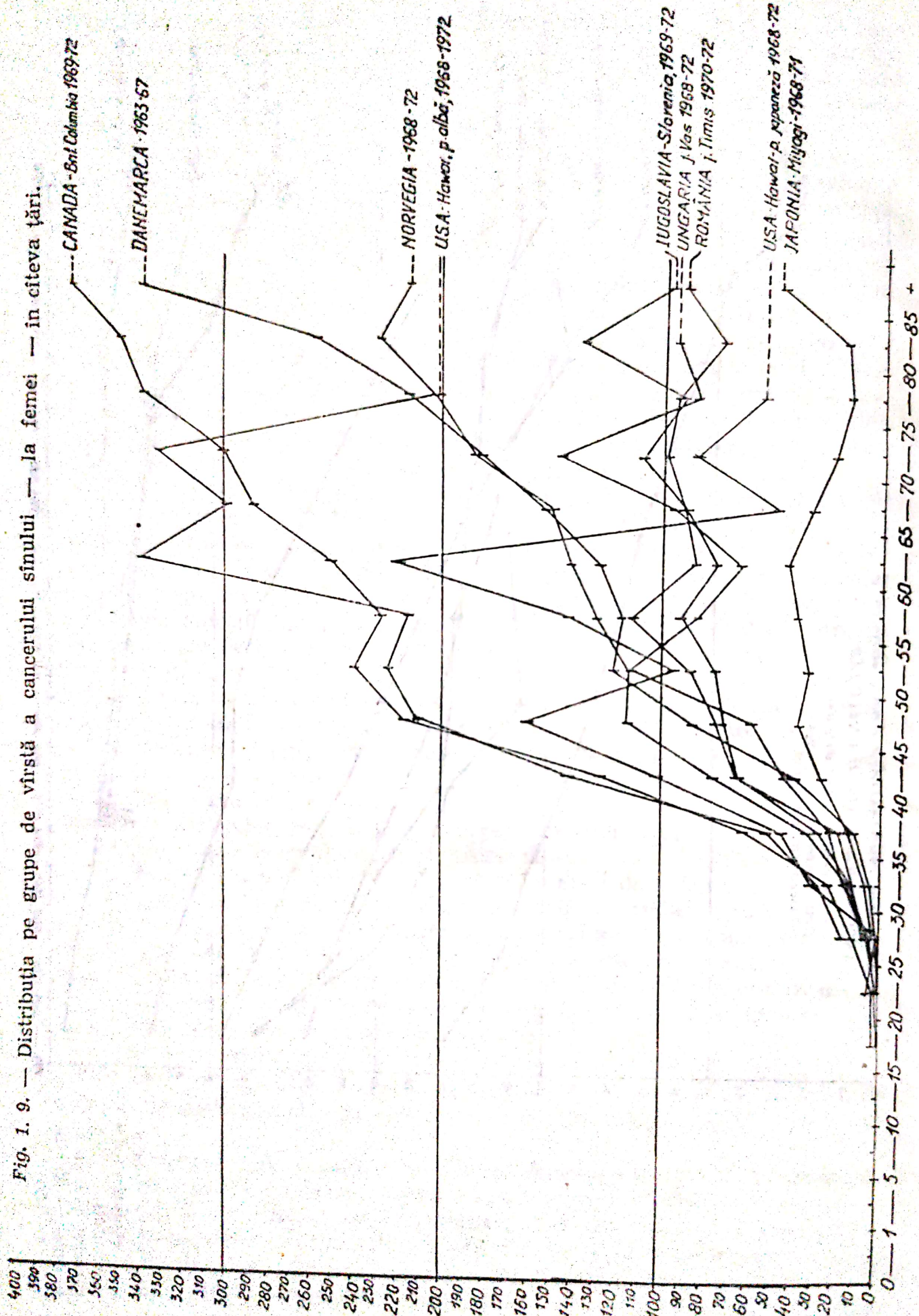


Fig. 1.8 — Tendințele evolutive ale mortalității prin cancerul sînului — la femeie — în cîteva țări.

Fig. 1. 9. — Distribuția pe grupe de vîrstă a cancerului sinului — la femei — în cîteva țări.



este „momentul etiologic“. Nu este deci surprinzător că numeroase studii au încercat să stabilească corelația dintre vârsta menarhei și a menopauzei și rata incidenței cancerului mamar. Vakil afirmă că majoritatea autorilor au raportat că menarha precoce poate să constituie un factor de risc, dar Wynder și Berndt nu confirmă această constatare. Munteanu constată într-un studiu al său o ușoară tendință spre menarhă mai precoce a bolnavelor decât la lotul martor.

Majoritatea autorilor sînt de asemenea de acord că menopauza mai tardivă se asociază cu un risc crescut de îmbolnăvire, care poate să ajungă pînă la dublu. Și din studiul nostru a rezultat că menopauza a survenit în medie cu jumătate an mai tîrziu la grupa bolnavelor.

Ideea că încetarea activității ovariene prin ooforectomie ar constitui un factor protector față de cancerul mamar a fost susținută de numeroși autori, printre care amintim pe Mac Mahon și Trichopoulos care au arătat că:

- menopauza indusă chirurgical reduce cu 60% riscul de îmbolnăvire în raport cu cele avînd o menopauză naturală între 50—54 de ani;

- la cele cu o menopauză chirurgicală înainte de 35 de ani riscul de îmbolnăvire se reduce la 1/3, dar orice menopauză chirurgicală înainte de 50 de ani exercită o acțiune protectoare;

- efectul protector se manifestă la toate deceniile ulterioare actului chirurgical, cel mai mic fiind în primii 10 ani după castrare;

- femeile cu menopauza după 55 de ani au un risc de îmbolnăvire de 2 ori mai mare în raport cu cele avînd menopauza înainte de 45 de ani și acest risc se manifestă mai ales după 70 de ani.

Cu cît o castrare — deci abolirea funcției ovariene — se face la o vîrstă mai tînră, cu atît este mai scurtă perioada de activitate ovariană și cu atît este mai evident rolul protector al ooforectomiei. Bulbrook socotește că riscul mai scăzut de cancer mamar la femeile ooforectomizate se poate atribui nu atît îndepărtării ovarelor, cît stării hiperestrogenice care a constituit indicația intervenției. El consideră că un stimul estrogenic scăzut constituie factorul cauzal al cancerului mamar și că de fapt femeile castrate sînt protejate nu de ablația ovarelor, ci de starea de hiperestrogenie premergătoare intervenției.

Din cele peste 20 de fracțiuni estrogenice existente la femeie, numai trei au activitate mai substanțială:

- estrona, cu cea mai mare putere carcinogenetică;
- estradiolul, cu acțiune carcinogenetică redusă și
- estriolul, inactiv carcinogenetic.

Lemon și colab. au susținut că la femeile la care raportul dintre estriol și celelalte două fracțiuni este scăzut, există un risc crescut de cancer mamar. Mac Mahon și Cole susțin de asemenea că acest raport este crescut la populația cu rata cea mai scăzută de cancer mamar (exemplu populația feminină japoneză), această situație fiind accentuată în special la femeile tinere. Cu alte cuvinte factorul determinant al riscului este dat de aceste niveluri relative ale estrogenilor endogeni din primul deceniu după menarhă, risc care se menține apoi tot timpul vieții femeii. În subsidiar, sarcina la această vîrstă tînră realizează niveluri favorabile de estrogeni, care ar constitui elementul protector față de cancerul mamar.

Bulbrook și colab. consideră dimpotrivă că estrogenii sînt de importanță minoră. În așa-zisul „studiu Guernesey“ ei au determinat la toate femeile între

30—55 de ani din insulă nivelul etiocolanolonei (catabolit al corticosteroidelor). Din cele aproximativ 5000 de femei investigate, la 27 a survenit ulterior un cancer mamar. La toate acestea s-au constatat niveluri scăzute ale excreției de etiocolanolonă și androsteronă, modificări care în unele cazuri au fost deja prezente chiar cu 9 ani înaintea manifestării clinice a bolii. Faptul că și surorile bolnavelor cu cancer mamar din această populație au prezentat o hipersecreție de androgeni la pubertate, presupune participarea și a unui factor genetic.

Concluzia ce se poate trage din acest număr surprinzător de date este faptul că niveluri hormonale diferite ar induce, respectiv ar promova, dezvoltarea unui cancer mamar. Interrelațiile androgen-estrogen sînt foarte complexe, dar ipotezele care admit corelația estrogenilor cu riscul crescut de îmbolnăvire par mai atractive, astfel că determinarea acestora ne face să considerăm că ne duce mai direct spre înțelegerea unor factori etiologici în cancerul mamar.

Rolul jucat de alți hormoni în cancerogeneza sînului este mai puțin dovedit.

Bulbrook în 1979, ca și Korenman în 1980 au sugerat ideea efectului protector posibil al progesteronei și androgenilor în cancerul sînului.

Hiper- ca și hipotiroidismul au fost implicați de asemenea în creșterea incidenței cancerului sînului (Kirschner și Zumoff, citați de Armstrong). Potrivit părerii acestor autori, hipotiroidismul ar interfera cu activitatea estrogenilor sau a prolactinei, dar asupra acestei probleme planează încă nesiguranța și controversa.

În legătură cu progesterona există multe observații contradictorii, dar în general se consideră că acest hormon se opune activității estrogenilor, avînd deci un rol antagonist în carcinogeneza mamară, după cum în cazul prolactinei se acceptă rolul acesteia de a stimula (în experimentele pe animale) activitatea unor substanțe cancerigene (dimetilbenzantracenul).

O tratare exhaustivă a rolului jucat de factorii hormonalî în cancerogeneza sînului în spațiul restrîns destinat epidemiologiei cancerului sînului este practic imposibilă, motiv pentru care am căutat să subliniem doar ideile principale legate de rolul factorilor endocrini, în special al celor ovarieni în apariția bolii.

1.4.3.

Epidemiologia cancerului gastric

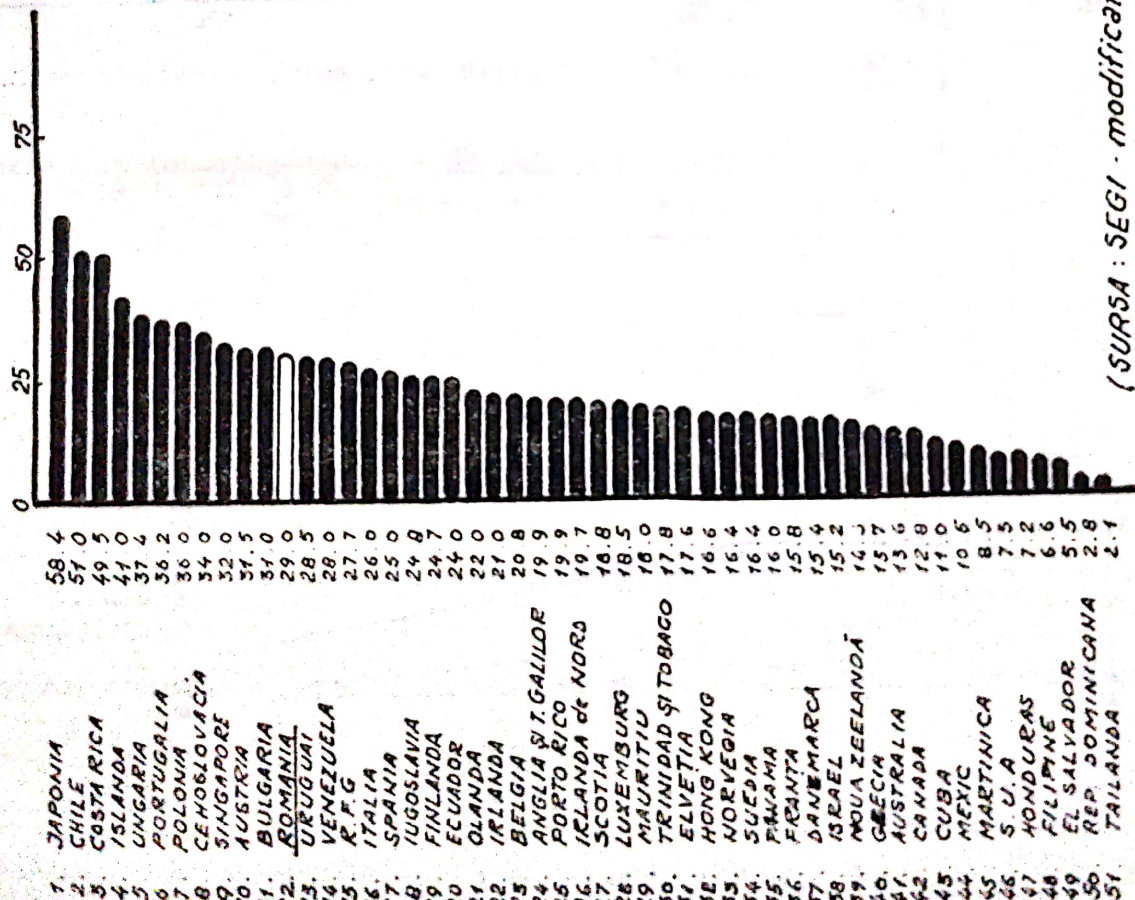
Din punct de vedere epidemiologic cancerul gastric prezintă două trăsături caracteristice: variabilitatea ratei incidenței și mortalității în diferite țări și arii geografice și tendința continuă de scădere a acestor indicatori.

Cancerul gastric este o neoplazie relativ frecventă în toate țările lumii, dar cu variabilitate foarte importantă de la o țară la alta din punctul de vedere al nivelului ratelor de mortalitate și morbiditate.

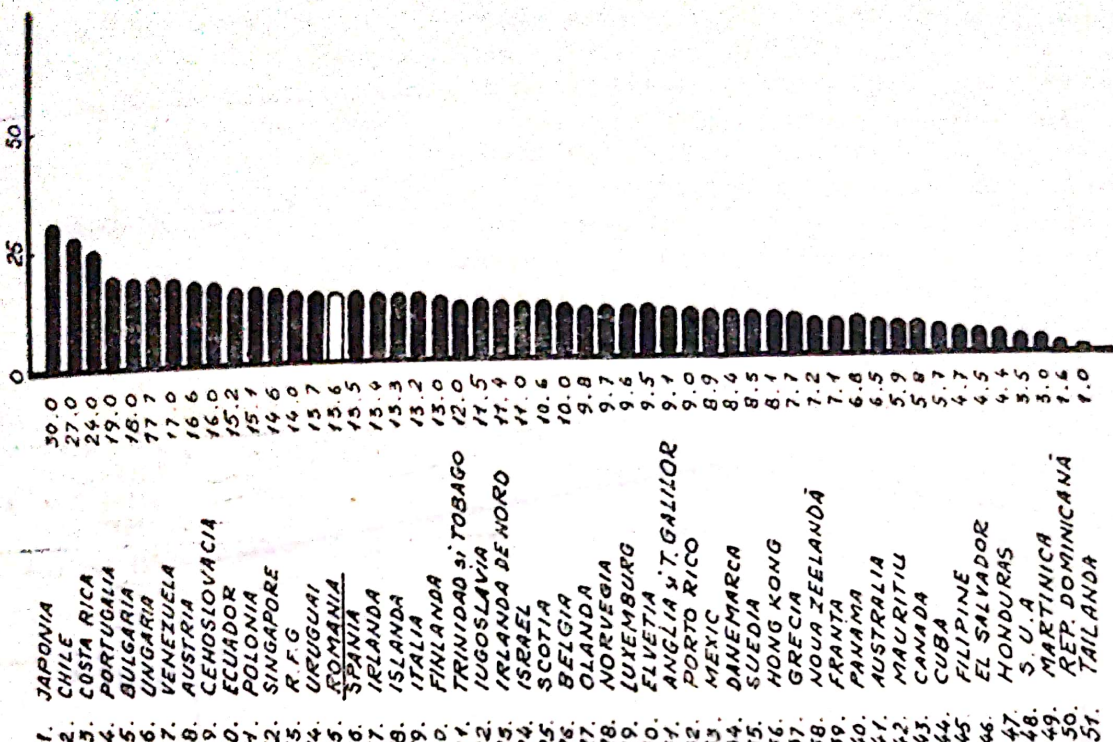
Dar indiferent de valoarea acestor indici ai cancerului gastric consemnat într-o țară sau alta, frecvența bolii în sînul populației masculine este practic dublă în raport cu populația feminină.

În „top”-ul dat de rata mortalității înregistrată pe mapamond locul întîi atît la bărbați, cît și la femei este deținut de Japonia (1974), țară urmată îndeaproape de Chile, țările Europei Centrale, Finlanda etc. România,

BĂRBATI



FEMEI



(SURSA : SEGI - modificat)

Fig. 1.10. — Cancerul gastric — mortalitatea specifică virstei în 51 de țări ale lumii în 1971.

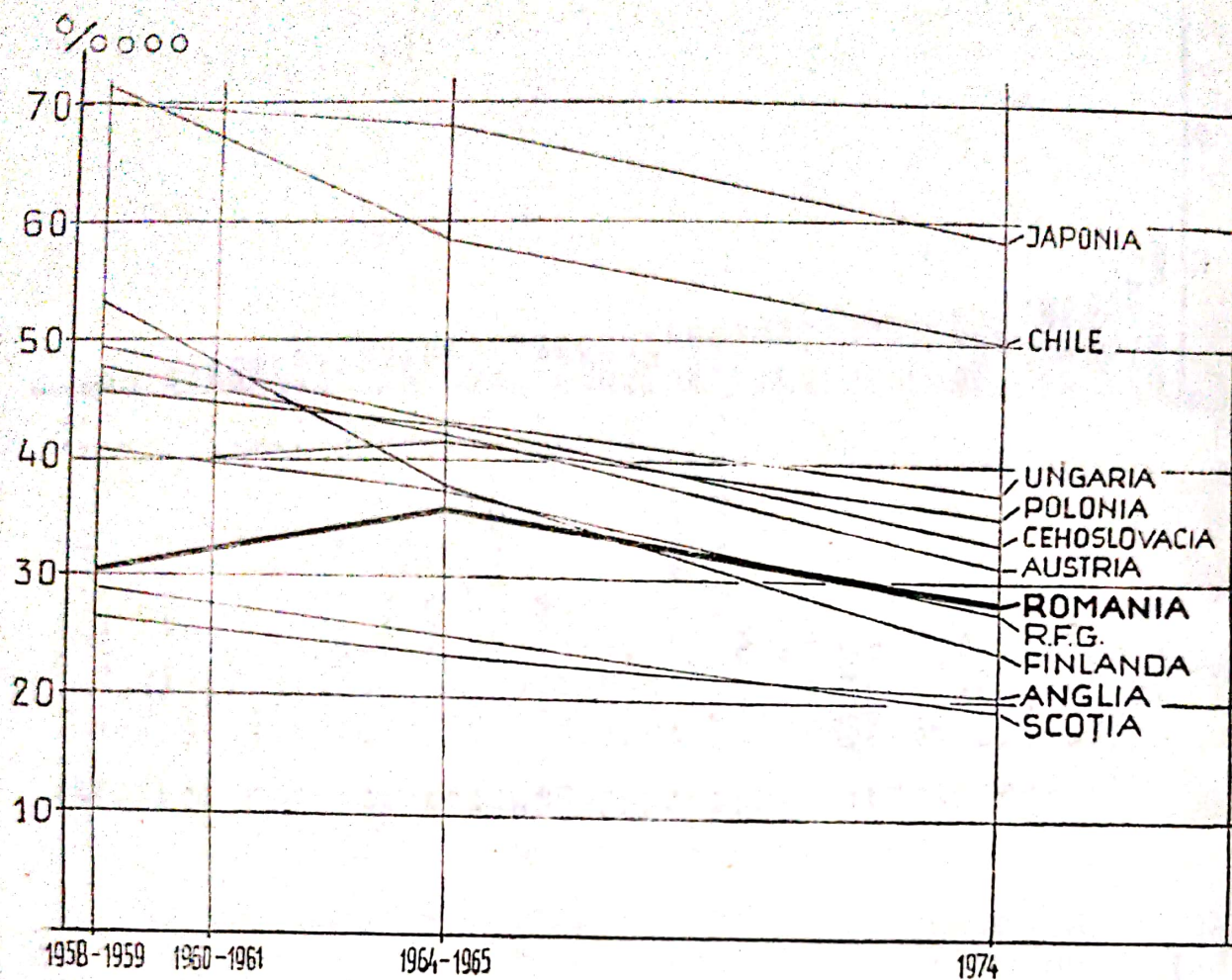


Fig. 1.11. — Tendințele evolutive ale mortalității prin cancer gastric (sex masculin) în câteva țări.

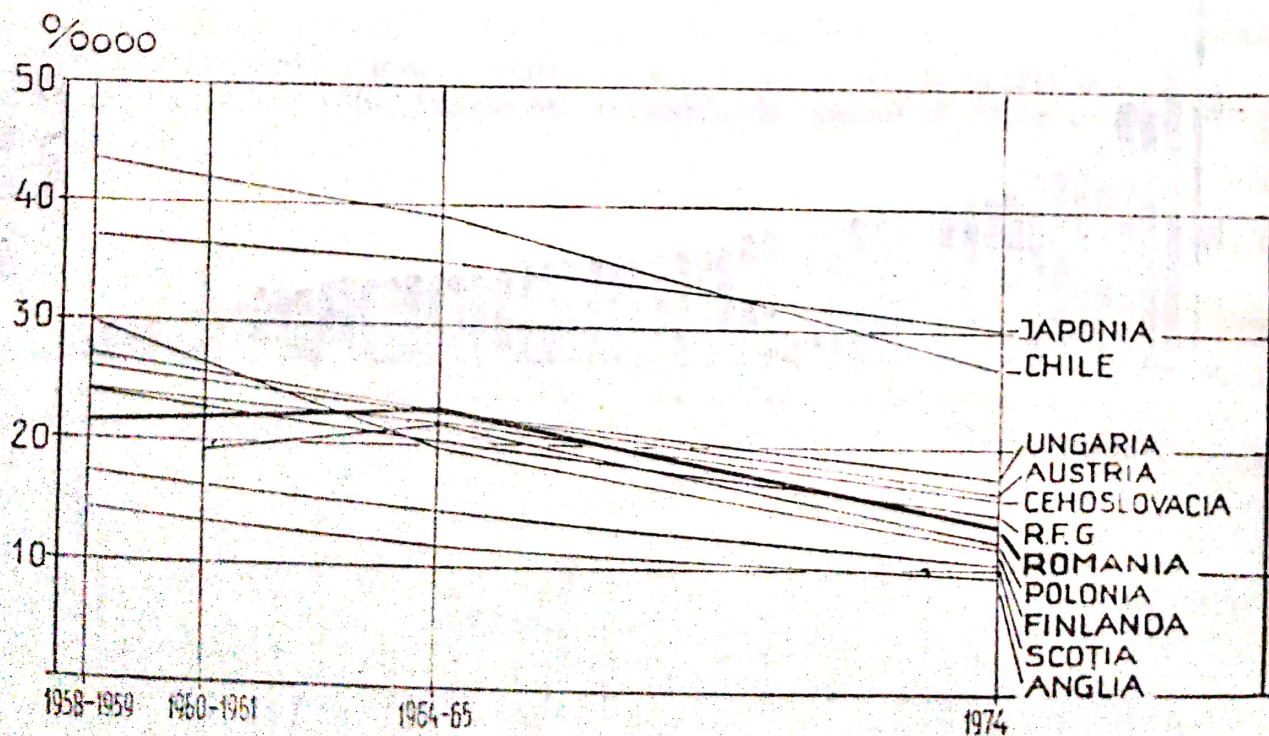
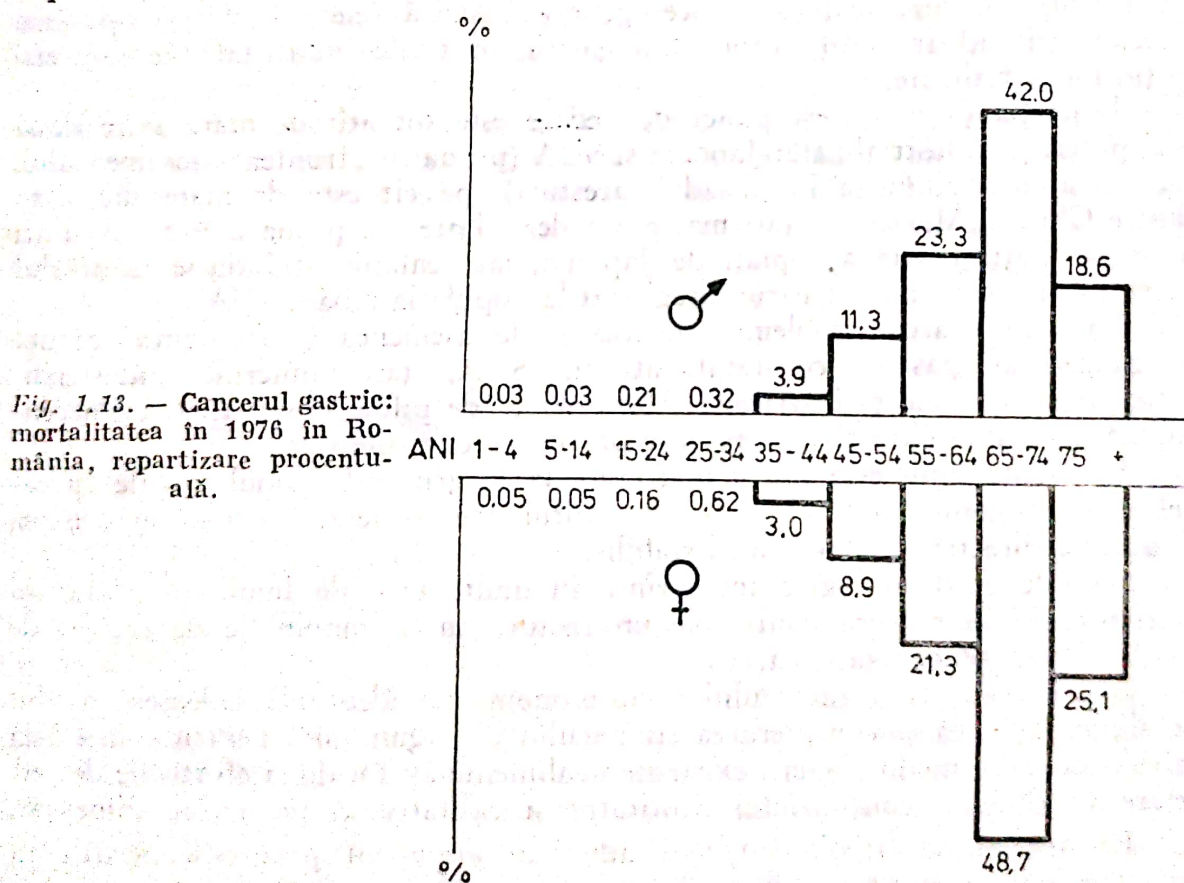


Fig. 1.12. — Tendințele evolutive ale mortalității prin cancer gastric (sex feminin) în câteva țări.

cu o rată de mortalitate de 28,6⁰/0000 pentru bărbați ocupă locul 12 din 51 de țări ale globului, iar la femei locul 15 cu o rată de 13,7⁰/0000.

Nu se înregistrează diferențe în incidența și mortalitatea prin cancer gastric numai într-un context internațional, ci și în cadrul aceleiași țări. În Japonia de pildă, cancerul gastric este mai frecvent în prefecturile din nordul țării și de-a lungul coastei Mării Japoniei. Aceași neuniformitate în distribuția bolii este semnalată și de autorii americani, ratele cele mai ridicate ale mortalității prin cancer gastric fiind înregistrate în statele din nord: Michigan, Wisconsin, Minnesota, Dakota de Nord și Maine. În România regiunile geografice de risc sînt reprezentate prin județele din estul și vestul Transilvaniei (Covasna, Harghita, Arad etc.) și din Bucovina (Suceava). Această inegalitate de distribuție a frecvenței pe plan intern sau internațional a dat naștere unor ipoteze etiopatogenetice, punînd în discuție factori care încep cu natura solului și climatul, continuă cu mediul de locuit, ocupația și regimul alimentar al bolnavilor și termină cu cei genetici.

Frecvența bolii crește proporțional cu vîrsta, grupele vîrstnice fiind de obicei cele mai afectate. Cancerul gastric este o excepție sub 30 de ani, dar după 40 de ani curba grafică a frecvenței bolii se ridică brusc, atingînd ni-



velul maxim după vîrsta de 60 de ani. Într-un studiu personal, care confirmă observațiile altor autori, am găsit că 95% din bolnavi, atît bărbați cît și femei, au decedat prin cancer gastric după vîrsta de 45 de ani.

Natura solului ca factor etiologic prezumtiv a fost studiată de numeroși autori, dar deși au fost relatate unele paralelisme, o corelare cauzală nu a putut fi efectiv demonstrată. Stock, Davies, Tromp etc. au studiat de pildă relația dintre incidența cancerului gastric și conținutul de zinc și cupru al

solului, căutînd să explice o posibilă corelație statistică a parametrilor studiați. Cercetările ulterioare ale lui Ashley și Davies au scos în evidență faptul că nu poate fi ferm demonstrată o relație cauză-efect între o anumită concentrație a unor elemente minerale din sol și un anumit nivel al incidenței cancerului gastric al populației din zonă cu cel găsit la populația generală. În cazul dat, autorii au incriminat mai degrabă un factor de ordin genetic, rasial, decît geologic.

Pentru a demonstra cît de complexă este problema factorilor de risc în cancerul gastric, amintim afirmația autorilor japonezi Yamaghi și Hiramicki, privitor la importanța factorului rasial și a mediului extern.

Pornind de la constatarea lui Quisenberry și colab. potrivit căreia cancerul gastric în Hawaii este mai frecvent la japonezi decît la alte rase conlocuitoare, Haensel și Kurihara scot în evidență existența unor diferențe semnificative ale incidenței bolii între prima generație (Issei) și a doua generație (Nisei) de japonezi emigranți. Constatarea lui Segi relativ la distribuția teritorială inegală a cancerului în Japonia aduce argumente în favoarea tezei predominanței factorilor de risc ai mediului extern, îndeosebi a obiceiurilor alimentare în cancerogeneza gastrică. Că nu un singur factor, ci o multitudine de factori sînt implicați în cancerogeneza gastrică reiese și din compararea datelor privind frecvența cancerului gastric în țările industrializate sau mai puțin industrializate.

Discrepanța din acest punct de vedere este tot atît de mare între două țări puternic industrializate: Japonia și SUA (prima în „fruntea” clasamentului, iar cealaltă situîndu-se în „coada” acestuia), pe cît este de mare diferența dintre Chile și Mexico — țări mai puțin dezvoltate —, prima avînd indicatori ai mortalității foarte apropiați de Japonia, iar cealaltă situîndu-se la nivelul mortalității prin cancer gastric înregistrat la populația albă a SUA.

La complicarea problemei contribuie de asemenea și frecvența scăzută a cancerului gastric constatată atît în SUA, țară puternic industrializată, cît și în unele țări africane, Mozambicul de pildă, observație care accentuează disonanța cînd fenomenul este privit oarecum simplist.

Frecvența bolii este totuși mai crescută la grupurile populaționale cu nivel socio-economic mai scăzut — în cadrul unei societăți — dar un consens în această direcție nu a fost încă stabilit.

Studiile epidemiologice întreprinse în multe țări ale lumii au căutat să descifreze în ce măsură contribuie un factor sau o combinație de factori de risc la cancerogeneza gastrică.

Analiza atentă a factorului socio-economic, evidențiind îndeosebi modul de alimentație, ca și considerarea stomacului ca organ țintă pentru constelația de substanțe din mediul extern existente în alimente au focalizat eforturile de cercetare în direcția conținutului cantitativ și calitativ al regimului alimentar.

La această motivație s-a mai adus un argument prin descoperirea în alimente a unor substanțe chimice cu acțiune cancerigenă dovedită la animalele de experiență. Dată fiind existența în cuprinsul tratatului a unui capitol privind relația dintre cancer și alimentație, ne vom referi foarte pe scurt la substanțele cu acțiune cancerigenă asupra stomacului.

Alimentele bogate în hidrați de carbon au fost incriminate în inducerea cancerului gastric, boala cea mai frecventă la populațiile mari consumatoare de cereale (japonezii) și de cartofi (polonezii), fără însă să se identifice vreun agent cancerigen în dieta bogată în cereale.

Un efect invers a fost constatat în cazul în care regimul alimentar a fost bogat în lapte (și preparate de lapte) și fructe proaspete. Modificarea survenită în tendința evolutivă a cancerului gastric în Japonia și anume scăderea ratei de mortalitate și în această țară cu cea mai mare incidență și mortalitate în cancer gastric, ar putea fi explicată prin cele afirmate anterior. Dealtfel rolul protector al vitaminelor A și C în cancerogeneza gastrică a fost dovedit în mod experimental.

Prin modul de conservare și pregătire a alimentelor, ca de pildă afumarea și sărarea cărnii și peștelui, ca și modul de pregătire a alimentelor în grăsime încinsă (la temperaturi ridicate) se ajunge la o încărcare a alimentelor cu substanțe cancerigene din clasa hidrocarburilor ciclice aromate (benzpiren).

Nitrozaminele a căror activitate cancerigenă a fost descoperită de Barnes și Magee au fost găsite în vegetalele tratate cu fungicide, dar și în suc gastric al fumătorilor de țigarete, ca urmare a transformării cianatului, conținut în produsele tabagice, dizolvat în salivă și care pe această cale ajunge în stomac. Într-o cercetare epidemiologică retrospectivă am găsit și noi asemenea aspecte (Chiricuță, Bara, Bolba).

În prezent se desfășoară cercetări multiple pornind de la ipoteza că aminele secundare și nitriții din apa de băut și din alimentele conservate ar putea da naștere la compuși N-nitrozo atât în alimente, cât și în stomac.

Rolul alcoolului în producerea cancerului esofagian a fost demonstrat pe deplin, dar în cancerogeneza gastrică acest rol este încă puțin clarificat. Ca și autorii japonezi am constatat și noi uz și abuz de băuturi alcoolice la aproape toți bărbații și aproape la jumătate din femeile suferind de cancer gastric.

În concluzie, apariția unui cancer pe mucoasa gastrică nu ar fi decât suma acțiunii a mai mulți agenți cancerigeni asupra unui țesut receptiv, pregătit de o stare patologică cîștigată sau determinată genetic.

Componenta genetică a fost incriminată în cancerogeneza gastrică prin observarea unor focare familiale de cancer gastric. Un exemplu clasic este cel al familiei lui Napoleon. O altă constatare se referă la proporția mare a bolnavilor de cancer gastric aparținând grupei de sânge A, care în ultimă instanță ar reflecta o anumită calitate, mai puțin protectoare, a mucusului gastric.

Legătura dintre anemia pernicioasă și cancerul gastric este în prezent privită cu multe rezerve.

Mulți cercetători au admis ipoteza că variațiile observate în frecvența cancerului gastric ar putea fi date de frecvența tipului intestinal al acestei neoplazii maligne. Din acest punct de vedere Munoz și colab. au clasificat cancerul gastric în două principale tipuri histologice: intestinal și difuz.

Cancerul gastric de tip intestinal este de tip mai frecvent în zonele geografice cu risc crescut, iar cel difuz în zonele geografice cu risc scăzut.

Acești autori afirmă că declinul mortalității cancerului gastric în Norvegia evoluează paralel cu scăderea procentuală și a tipului histologic intestinal al cancerului gastric.

Problema altor afecțiuni predispozante — așa-zisele stări precanceroase — este tratată în alt capitol al cărții.

Epidemiologia cancerului gastric în special, ca și epidemiologia cancerului în general nu contribuie numai la acțiuni de combatere și profilaxie; ea este folositoare și clinicianului prin faptul că-i oferă date ajutătoare la deschiderea perspectivei și în acest domeniu.

1.4.4.

Epidemiologia cancerului colo-rectal

Justificarea studierii în comun a două segmente intestinale distincte din punct de vedere anatomo-fiziologic necesită unele clarificări.

Clasificația internațională a bolilor (CIB) elaborată de OMS încadrează „cancerul colonului” la numărul de cod 153, cuprinzând aici întreg intestinul gros cu excepția joncțiunii recto-sigmoidiene, cancerul rectal (CIB 154) fiind neoplazia malignă a rectului și a joncțiunii recto-sigmoidiene.

Logan, citat de Schotenfeld, include în cancerul colonului și cancerul intestinului subțire, dat fiind numărul extrem de redus al cazurilor de cancer al intestinului subțire înregistrat în multe țări ale lumii. Există însă și unele excepții, ca de pildă Japonia, cu o rată scăzută a mortalității prin cancer al colonului, dar unde cancerul intestinului subțire reprezintă 30% din totalul ambelor localizări luate ca un întreg. Cu o rată ridicată a mortalității prin cancerul colonului, Belgia are o proporție de 10% de cancer al intestinului subțire.

Justificarea studierii epidemiologice într-un tot unitar a cancerului colonului și rectului este dată de unele caracteristici comune din acest punct de vedere:

- demografice: distribuția geografică;
- factori de risc de tip asociativ: regimul alimentar, consumul de băuturi alcoolice și asocierea cu unele afecțiuni etichetate „precanceroase” (colita ulceroasă);
- factori de risc neasociativi: fumatul de țigarete (Cole).

Există totuși caracteristici epidemiologice specifice fiecărui segment al cancerului colo-rectal.

Cole arată că în privința factorilor demografici există o corelație directă între starea socio-economică a populației și frecvența cancerului colonului și lipsa unei corelații din acest punct de vedere cu cancerul rectal.

Relativ la studiul grupurilor populaționale ale emigranților constatăm o rapidă schimbare a prezenței cancerului colonului în raport cu cancerul rectal, unde nu sînt evidențiate modificări vizibile raportate la rata țării de adopțiune și de origine.

Antecedentele heredo-colaterale ale bolnavilor cu cancer al colonului sînt de trei ori mai încărcate cu prezența neoplazică a acestei localizări la rudele apropiate decît la restul populației, citîndu-se chiar „aglomerații familiale”.

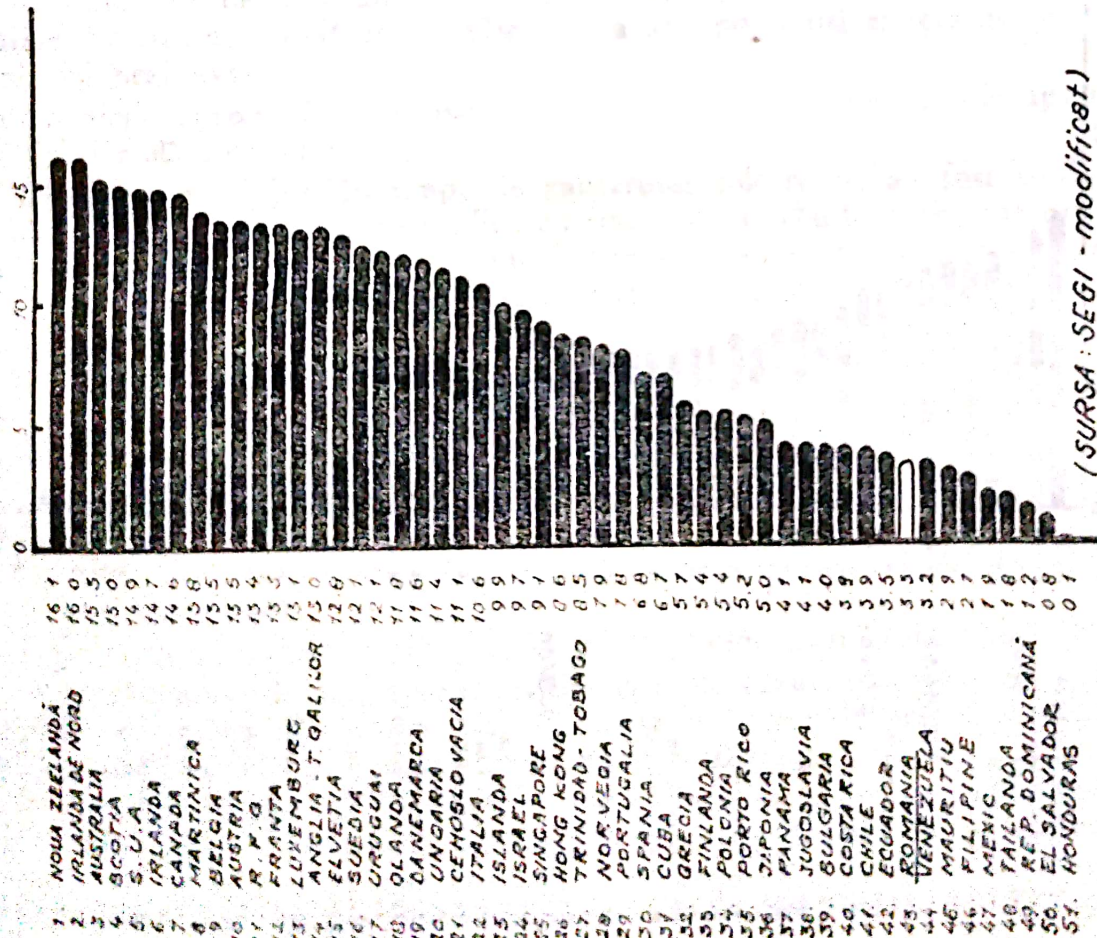
Patologia geografică a cancerului colo-rectal consemnează o mare variabilitate a ratelor de incidență și mortalitate între țările lumii.

Distingem din acest punct de vedere țări cu risc:

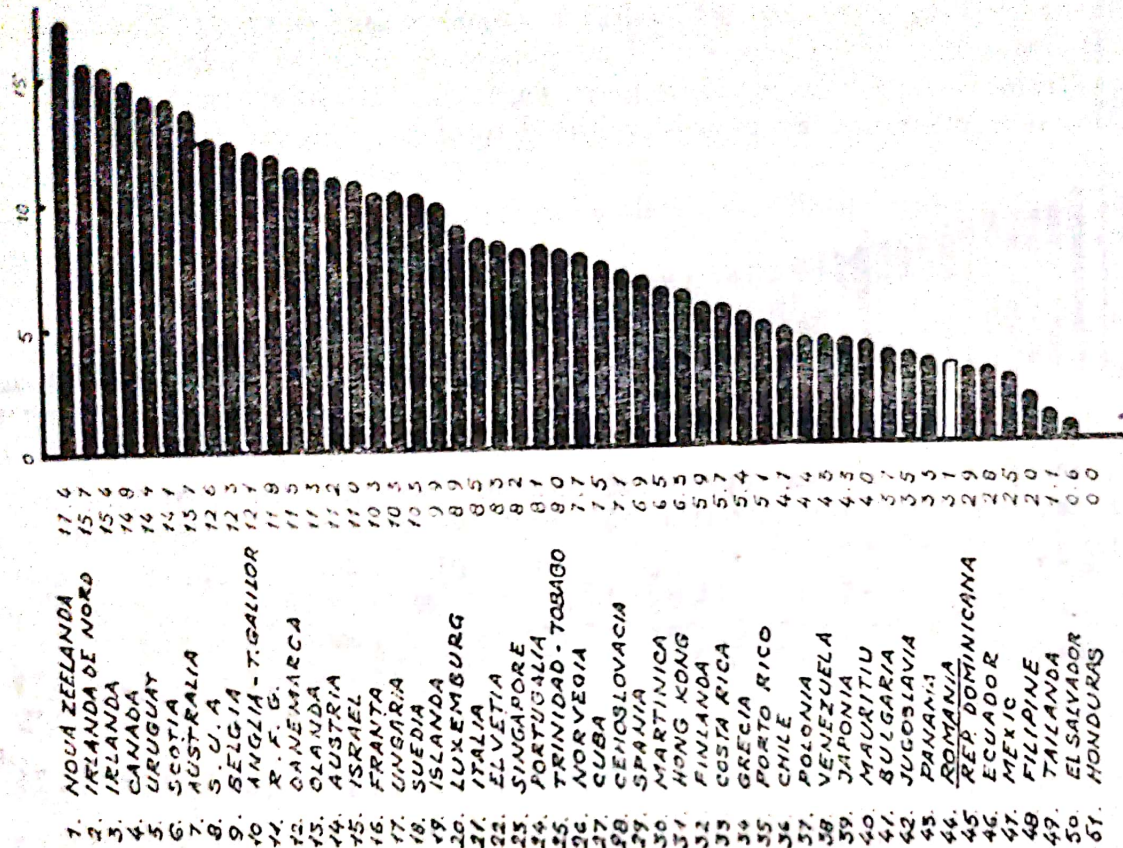
- crescut: Noua Zeelandă, SUA, Anglia, Danemarca și alte țări din nordul și vestul Europei;
- moderat: țări din Europa Răsăriteană ca România, Polonia, Iugoslavia etc.;
- scăzut: Japonia și țările africane.

Chiar luate separat, incidența cancerului rectal marchează o tendință comună cu cea a colonului. Cu alte cuvinte țările cu o frecvență crescută a cancerului colonului au și o frecvență crescută a cancerului rectal (fig. 1.14, 1.15).

BĂRBATI



FEMEI

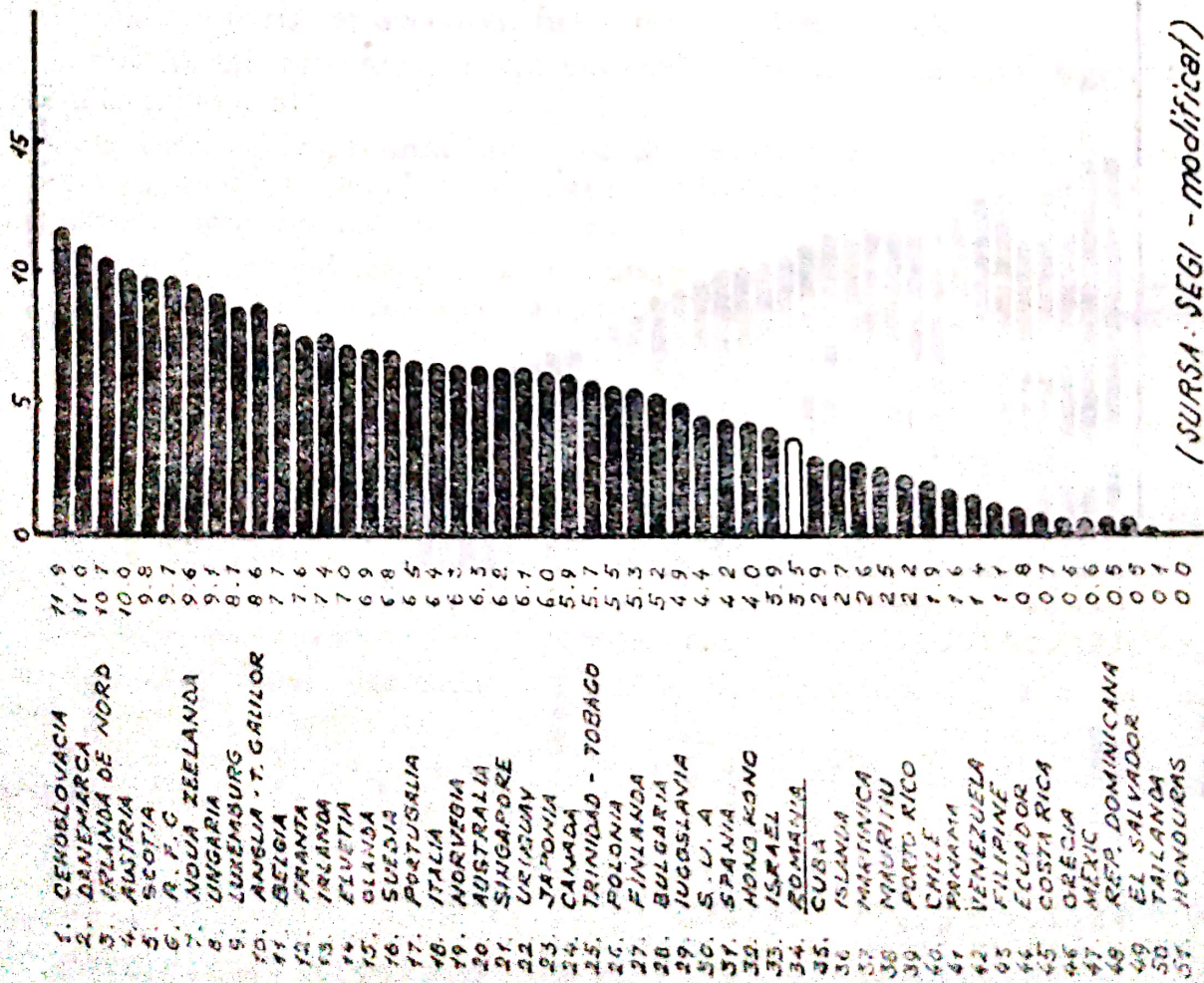


(Sursa: SEGI - modificat)

Fig. 1.14. — Cancerul colonului: mortalitatea specifică vârstei în 51 de țări ale lumii, 1974.

BĂRBĂȚI

FEMEI



(Sursa: SEGI - modificat)

Fig. 1.15. — Cancerul rectal: mortalitatea specifică virstei în 51 de țări ale lumii, 1971.

Acolo unde există o rată crescută a cancerului gastric se observă o rată scăzută a cancerului colonului și viceversa. Pe de altă parte, observînd tendințele evolutive constatăm de asemenea că în țările în care curba mortalității prin cancer gastric scade de-a lungul anilor, frecvența cancerului colonului crește de-a lungul perioadei studiate.

Deși au fost constatate diferențe regionale în distribuția cancerului rectal în arii cu „risc crescut” (SUA, Canada, Regatul Unit al Marii Britanii) nu există încă un consens în explicarea lor.

Ratele specifice vârstei pentru cancerul colo-rectal cresc progresiv cu vîrsta, de la grupa de vîrstă între 10—14 ani pînă la deceniul al 8-lea și scăzînd peste 85 de ani. Reiese deci că această localizare poate fi întîlnită la copii, ca și la vîrstnici, dar cu unele diferențe.

Cea mai frecventă localizare neoplazică la copil este la colon. Între $1/3$ și $1/2$ din cazurile înregistrate la copii sînt adenocarcinoame mucinoase, iar $1/6$ din cazuri carcinoame de tip coloid, deosebit de agresive pentru acest grup de vîrstă, cu o supraviețuire la 5 ani de 11% , în raport cu adulții, a căror supraviețuire cîcinală este de 37% . Aceste cancere la copii se asociază într-o proporție de $5,3\%$ cu polipoza familială și de $3,5\%$ cu colita ulceroasă.

În cele mai multe țări cancerul colonului afectează aproape în mod egal ambele sexe, în schimb cancerul rectal este mai frecvent la bărbați.

Pentru a justifica afirmația anterioară privind modificările care apar relativ rapid în prezența cancerului colo-rectal la populațiile emigrante, arătăm că japonezii emigranți în SUA au o mortalitate prin cancer colo-rectal de $21\frac{1}{2}$ mai mare decît locuitorii Japoniei și aproape aceeași rată ca a țării adoptive. Situații asemănătoare se găsesc și la alte populații emigrante: portoricani, polonezi, evrei.

Statisticile apreciază că aproape 70% din cancerele colo-rectale aparțin colonului, iar 30% rectului.

Tendințele evolutive, în timp, ale cancerului colo-rectal au fost studiate mai ales în țările sau ariile geografice cu risc crescut. Dacă în general caracteristica evolutivă a cancerului colonului este stabilă pentru populația majoritară (albă) din SUA, pentru populația de culoare se observă o creștere constantă, progresivă.

Din acest punct de vedere cancerul rectal nu marchează nici o diferență între populația albă și cea de culoare: scade progresiv. O creștere ușoară se înregistrează în ultimii 30 de ani și în Danemarca, Finlanda, Anglia, Porto-Rico, mai ales pe seama ameliorării calității diagnosticului și a unei mai corecte înregistrări a cazurilor.

Referitor la cancerul rectal se constată de asemenea o creștere moderată pentru țările menționate.

În privința „focarelor familiale” cu cancer colo-rectal arătăm că:

— modificările de tip genetic evidențiate în cazul adenomatozei colo-rectale sînt de 80% din cazuri mai frecvente în cancerele acestei localizări decît la grupul martor (De Couse și colab. în 1977; Erde în 1976);

— Fraumeni și Mulvihill au arătat însă în 1975 că apariția mai frecventă a cancerului colo-rectal nu este determinată exclusiv genetic și că asemenea aglomerări de cazuri pot reflecta atît factori genetici, cît și de mediu, îndeosebi obiceiuri alimentare. În sprijinul tipului de alimentație Bjelke (1975) aduce

ca argument frecvența constatată la soțiile sau soții prezentând cancer colo-rectal în raport cu lotul martor studiat.

Din afecțiunile asociate cancerului colo-rectal, etichetate „precanceroase”, majoritatea autorilor se opresc la colita ulceroasă. Într-un studiu al Clinicii Mayo, la 13% din cazuri (52 de cancere colo-rectale la 396 de bolnavi de colită ulceroasă studiați între 1919—1965) există o asemenea asociere.

Corelarea datelor privind incidența diferită a cancerului colo-rectal în diverse arii geografice cu consumul unui tip de alimentație a dat naștere unor ipoteze testate din punctul de vedere al epidemiologiei analitice prin studii caz-martor sau de cohorte.

Așa de pildă, Wynder și colab. (1967—1969) avansează ideea unei importante corelații între conținutul de grăsimi al hranei și cancerul colonului, prin influența pe care o au grăsimile din alimente asupra florei microbiene intestinale.

Gregor și colab. (1969) arată o corelație înalt semnificativă ($r=0,81$) între cancer și consumul de proteine animale.

Burkitt (1975) și Cleave (1974) arată riscul reprezentat de lipsa fibrelor vegetale din dietă în cazul cancerului intestinului gros.

Studiile caz-martor ale lui Wynder și Shigematsu (1967) pe un lot de 800 de cazuri de cancer colo-rectal comparativ cu un lot martor de 400 de cazuri fără cancer, au găsit o corelație semnificativă numai pentru cancerul rectal în legătură cu obezitatea și consumul de bere.

Pornind de la rolul important al factorului alimentar în producerea cancerului segmentului colo-rectal s-a trecut de la conceptul de epidemiologie analitică la cel de epidemiologie metabolică. Sub acest aspect vor fi luați în considerare trei factori ai regimului alimentar și anume: conținutul crescut de grăsimi, conținutul redus de fibre și conținutul crescut de proteine animale al alimentelor.

Rolul conținutului crescut de grăsimi în alimentație a fost explicat prin metabolizarea acizilor biliari în substanțe cancerigene și cocancerigene de către flora bacteriană intestinală și prin rolul de concentrare al substratului acizilor biliari din intestinul gros, ca și compoziția florei bacteriene care acționează pe substratul corespunzător. Unii acizi biliari prezintă interes deosebit pentru cancerogeneză, data fiind structura lor chimică asemănătoare cu cea a hidrocarburilor tipice aromatice, flora microbiană intestinală dovedindu-se capabilă să modifice inelul steroidic al acizilor biliari într-unul analog metilcolantrenului, după cum concentrația fecală a acizilor biliari și a florei bacteriene nu este decât o consecință directă a regimului alimentar.

Cercetări de laborator (Aries și colab.) au dovedit rolul jucat de grupul *Clostridia* în transformarea nucleului steroidic saturat al acizilor biliari în nucleu steroidic nesaturat.

Pentru a accepta rolul jucat de un regim alimentar cu un conținut redus de fibre vegetale, acesta ar implica constatarea potrivit căreia în țările cu un bogat conținut de fibre al alimentelor (exemplu țările africane) ar avea o rată scăzută a mortalității prin cancer colo-rectal, în timp ce țările a căror populație consumă alimente „rafinat” cu foarte puține fibre ar avea o rată crescută de mortalitate prin această boală. Studiile de patologie geografică confirmă o astfel de corelație.

Tipul de hrană, cu fibre puține în conținutul alimentelor, permite degradarea cvasitotală a componentelor fecaloide, cu o încetinire marcată a tranzitului bolului fecal, permițând compuşilor cancerigeni și cocancerigeni re-

zultați din transformarea acizilor biliari să acționeze un timp mai îndelungat asupra mucoasei intestinale colo-rectale.

Cît de complexă este problema reiese din studiul lui Robertson (1973), care arată că în Anglia, deși conținutul de fibre al alimentelor nu s-a modificat în ultimii 100 de ani, incidența cancerului colo-rectal este în descreștere.

Pe de altă parte, Burkitt (1974) a arătat că adăugarea unei cantități de 2—4 g/zi de fibre vegetale ar avea un rol preventiv în cancerul colo-rectal.

Rolul conținutului crescut de proteine animale al hranei s-ar explica prin transformarea aminoacizilor în substanțe cancerigene și cocancerigene de către bacterii. Este vorba de compuși N-nitrozo, compuși rezultați din metabolizarea triptofanului și a tirozinei.

1.4.5.

Epidemiologia leucemiilor

Bernard afirma că un studiu general privind patologia geografică a leucemiilor este foarte important prin obiective, dar foarte modest prin rezultate. Motivul acestei afirmații este existența unor date statistice pe cît de imperfecte pe atît de inegale, situație explicabilă prin insuficiența cantitativă și calitativă a acestor date și prin lipsa unei nomenclaturi comune, unanim acceptată, care să poată răspunde exigențelor cercetării științifice.

S-a sperat și s-a reușit, cel puțin în parte, ca din datele obținute prin studiile epidemiologice ale leucemiilor la om și cercetările la animale să fie identificați factorii exogeni sau endogeni care determină sau influențează apariția acestor boli.

Studiile de epidemiologie a leucemiilor la om au ca obiectiv stabilirea frecvenței îmbolnăvirilor în funcție de factori ca vîrsta, sexul, teritoriul geografic, condițiile socio-economice, expunerea accidentală sau îndelungată la anumiți factori de risc. Totodată s-au căutat dovezi pentru o transmitere orizontală și/sau verticală a leucemiilor printr-o posibilă contagiozitate, urmărindu-se incidența acestor boli în anumite familii, rase, colectivități, precum și posibile legături între îmbolnăvirile la animale și oameni.

Cunoașterea ratei mortalității leucemiilor permite o apreciere reală a incidenței la om, datorită supraviețuirii extrem de scurte, respectiv a letalității foarte crescute în cadrul bolii.

Silverberg arată că la circa 23 400 bolnavi cu leucemie înregistrați anual în SUA survin 15 900 decese (68%), ceea ce ar corespunde cu moartea a doi din trei bolnavi înregistrați, deci numai un bolnav din trei cu leucemie are șansa de a supraviețui peste un an. Raportul nr. 5 al Departamentului Sănătății din SUA „Supraviețuirea Pacienților Canceroși“, dă pentru ansamblul leucemiilor o supraviețuire la 5 ani de 14% pentru bărbați și de 15% pentru femei. În studiul efectuat pe 2 023 leucemii de toate vîrstele Yoshino și Moriga arată că supraviețuirea medie în funcție de tipul celular a fost de 3,0 luni (1 497 cazuri) pentru leucemia acută mieloidă, 3,6 luni (213 cazuri) pentru leucemia acută limfatică, 3,2 luni (126 cazuri) pentru leucemiile acute nediferențiate, 2,5 luni (187 cazuri) pentru leucemiile acute monocitare.

Autorii norvegieni arată că aproximativ 90% din bolnavii cu leucemii acute sucombă într-un interval sub 1 an de la debutul bolii; supraviețuirea la

un an este de 10%, iar la 5 ani de numai 0,5%. În leucemiile cronice supraviețuirea nu oferă cifre chiar atât de dezolante. În leucemia limfatică cronică supraviețuirea la 1 an a fost de 65%, la 5 ani de 25% iar la 15 ani de 5% (sexe întrunite). Leucemia granulocitară cronică nu atinge însă nivelul relativ crescut al leucemiei limfaticice cronice, la 5 ani supraviețuirea fiind de 10% (sexe întrunite), iar la 15 ani de 1% la bărbați și 4% la femei.

Din datele publicate de Segi și colab. se conturează din punctul de vedere al ratei mortalității prin leucemii 3 grupe de țări:

— cu mortalitate crescută: Austria, Belgia, Cehoslovacia, Israel, Italia, Noua Zeelandă, SUA, Ungaria;

— cu mortalitate medie: Anglia, Finlanda, Polonia, România;

— cu mortalitate scăzută: Filipine, Hong-Kong, Japonia, Tailandă.

Distribuția ratelor mortalității pe grupe de vârstă dă o curbă cu un prim vîrf situat sub vîrsta de 10 ani, o declivitate pînă la 35 de ani, urmată de o creștere accentuată cu vîrsta.

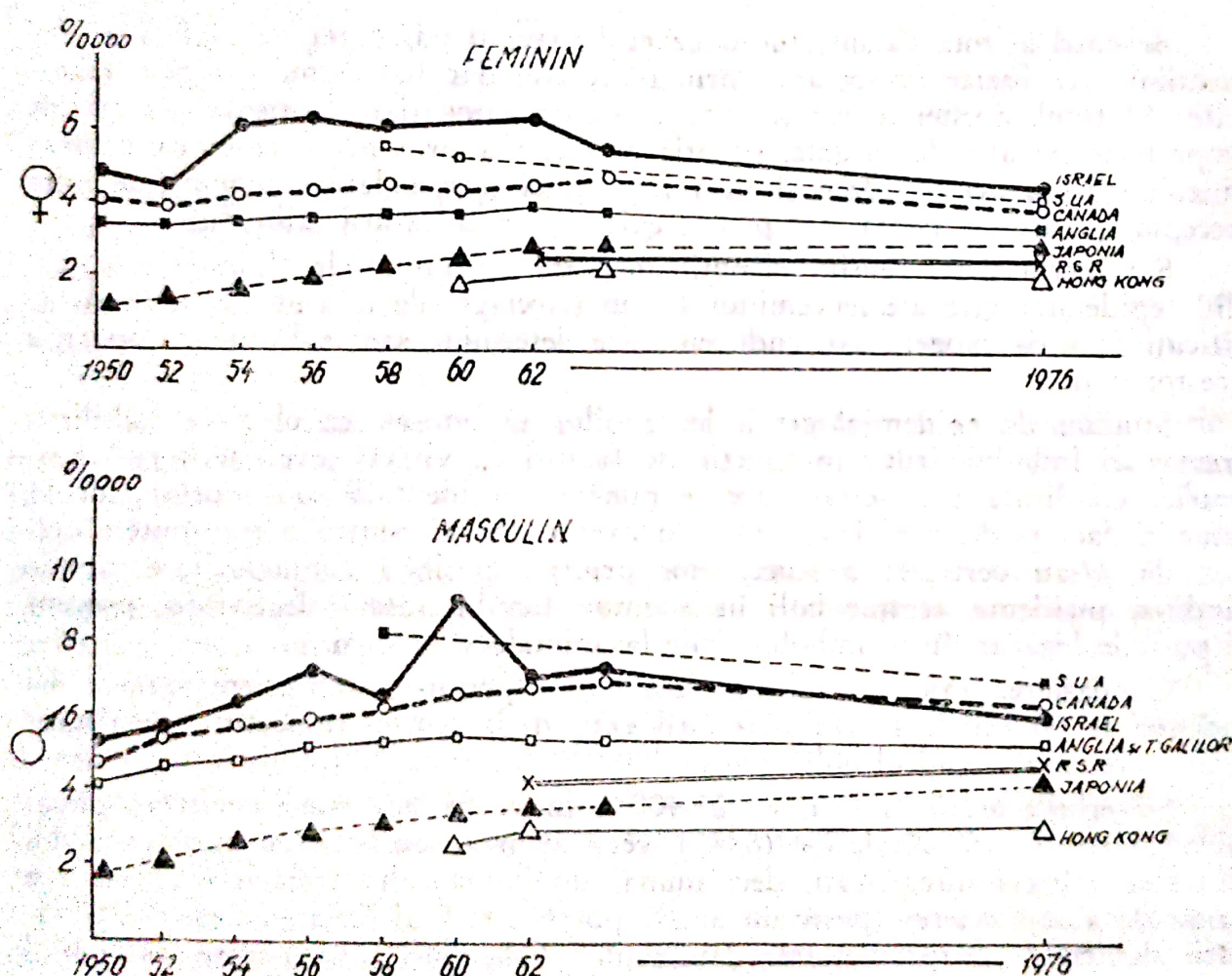


Fig. 1.16. — Evoluția mortalității prin leucemii în câteva țări.

Un alt element de interes epidemiologic este dat de tendința evolutivă în timp a ratei incidenței leucemiei. Referindu-se la situația din Marea Britanie, Court-Brown și colab. arată o creștere fermă a mortalității prin leucemii de la 1,70/0000 (sexe întrunite) în 1931 la 5,80/0000 în 1961. Cercetînd și ei această tendință pentru Japonia autorii japonezi arată o creștere mai lentă de la 0,50/0000 în

1910 la 1,4‰ în 1955, după care nivelul ratei mortalității rămâne constant, fiind urmat de o creștere accentuată către anul 1960 (2,8‰). În baza datelor Centrului Național de Statistică a Sănătății și a Biroului de

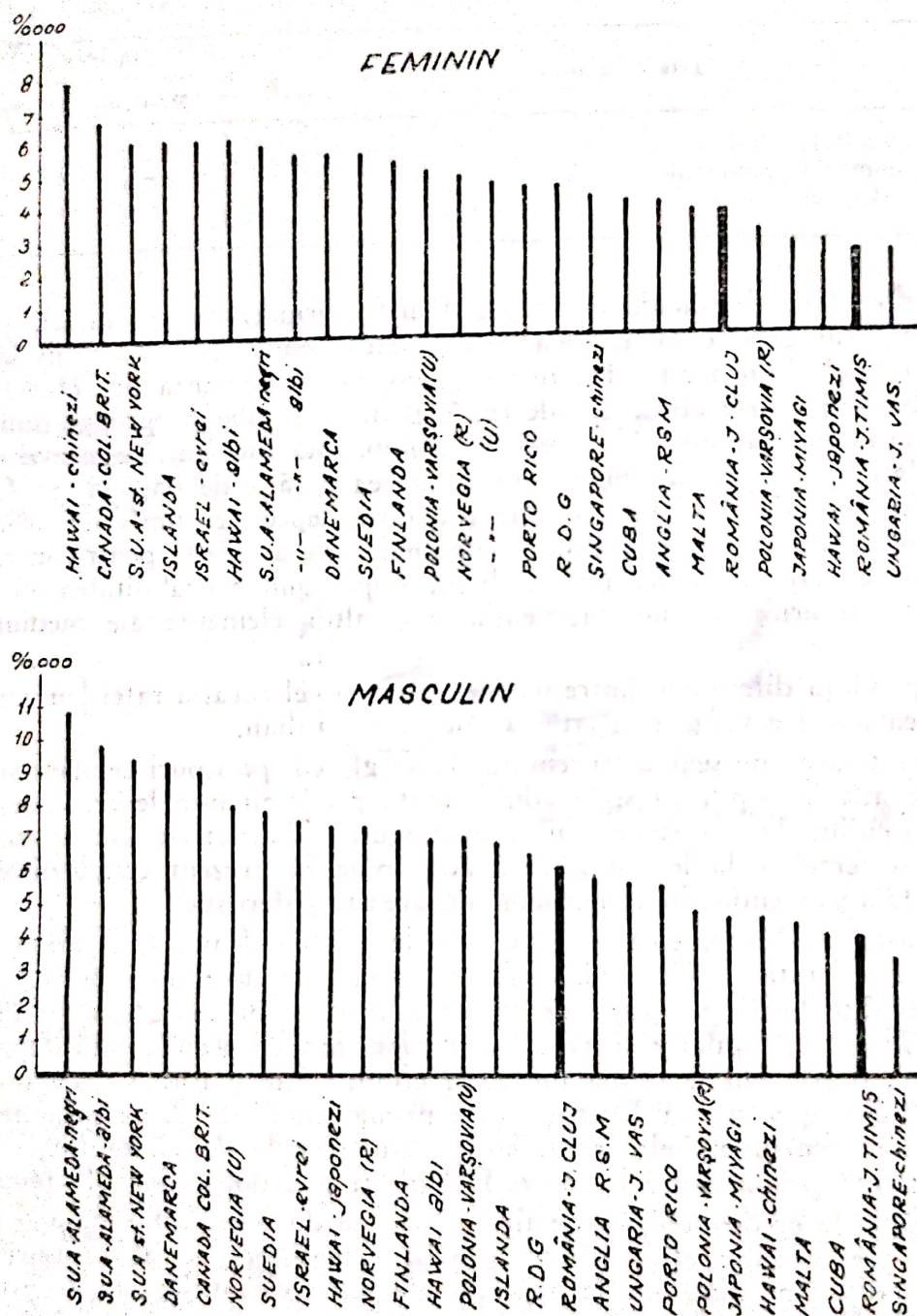


Fig. 1.17. — Leucemii — toate formele — incidența în unele țări și arii geografice.

Demografie din SUA, Silverberg confirmă atât pentru sexul masculin, cât și pentru cel feminin o creștere lentă dar constantă a ratei mortalității prin leucemii între 1930—1960, după care se constată o aplatizare a curbei, chiar o tendință de scădere ușoară a leucemiilor.

Pe lângă faptul că prezintă similitudini cu datele de mortalitate, studiul incidenței leucemiilor aduce câteva elemente în plus. Explicăm prin tabelul următor, care suscită unele discuții:

Aria geografică	Incidența (%/an)	
	Masculin	Feminin
Hawai — populația albă	9,3	6,1
Hawai — populația japoneză	7,4	2,7
Japonia — Miyagi	4,6	3,7

Aceste date de incidență nu confirmă afirmația unor autori, potrivit căreia factorul genetic ar explica mortalitatea redusă prin leucemii la japonezii din SUA. Din acest tabel reiese că populația japoneză din Hawai are o rată la bărbați foarte apropiată de cea a populației albe și aproape dublă față de populația din Japonia. La femei în schimb, rata incidenței este mai scăzută la populația japoneză din Hawai decât la cea a țării de baștină. Să fie oare această situație datorită hazardului? Raritatea leucemiei limfatice cronice în țările asiatice este totuși o realitate palpabilă, care ar pleda pentru intervenția factorului genetic în determinarea bolii, după cum variabilitatea incidenței prezentată anterior susține intervenția și a altor elemente ale mediului extern.

În privința diferenței dintre mediul urban și cel rural a ratei leucemiilor se înregistrează o frecvență mai crescută în mediul urban.

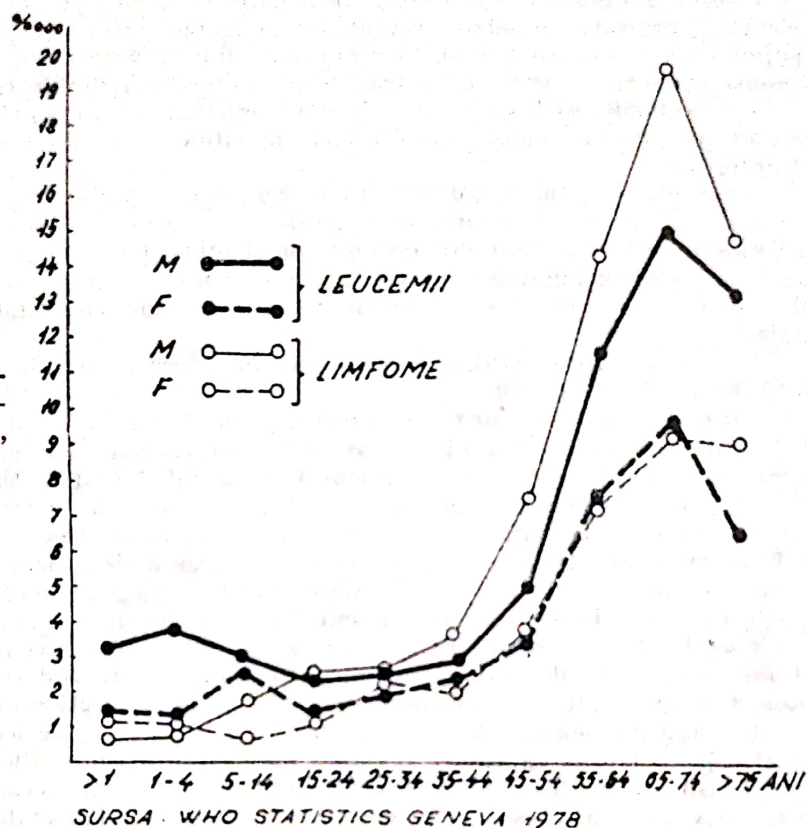
Repartizarea pe sexe a leucemiilor luate global, pe tipuri celulare și forme evolutive atât la copil, cât și la adulți, arată predominanța leucemiilor pentru sexul masculin. Teoria susceptibilității crescute a bărbaților sau a rezistenței crescute a femeilor la leucemii nu a adus pînă în prezent concluzii valabile privind factorul endocrin responsabil de această diferență.

Analiza epidemiologică a unor aspecte ale incidenței leucemiilor pe tipuri celulare arată că leucemia acută este cea care determină primul vîrf al curbei de distribuție pe grupe de vîrstă a leucemiilor luate global. Prezența marcată în prima copilărie, leucemia acută este practic necunoscută după vîrsta de 40 ani, după cum leucemia limfatică cronică este o formă necunoscută la copii. Silverberg arată că leucemia este prima cauză de deces prin neoplazii sub 15 ani (pentru ambele sexe), iar pentru grupele de vîrstă între 15—34 ani reprezintă prima cauză de deces la bărbați și a doua cauză la femei.

Cercetările epidemiologice de tip analitic se dovedesc laborioase și dificile în cazul presupusului efect leucemogen al radiațiilor sau al virusurilor. În aceste condiții, pornind de la ipoteza efectului radiațiilor, la o populație expusă la 0,91 rem/an în raport cu o populație martor expusă la 0,075 rem/an sînt necesare determinări la un număr de 40 000 persoane populație expusă și la 80 000 populație martor pentru a se putea obține concluzii valabile din punct de vedere statistic. În cazul ipotezei etiologice virotice, ar fi necesar ca în cercetare să fie cuprinsă o populație echivalentă cu a unui megalopolis (Paris, Londra) cu organizarea unor stații de stocare a sîngelui prelevat pentru testare, care să fie menținut la -20°C , echipe complexe de cercetători și un sistem de fișaj și prelucrare computerizat.

Ideea transmisibilității orizontale, a leucemiilor la om se bazează pe:
 — constatarea contagiozității leucemiilor la animale;
 — demonstrarea de către Gross a prezenței virusurilor la șoarecii cu leucemii și inducerea de leucemii la alte linii de șoareci cu ajutorul extractelor acelulare;

Fig. 1.18 — Distribuția mortalității prin leucemii și limfoame pe grupe de vîrstă, România 1976.



- existența unor elemente de tip infecțios în tabloul clinic al leucemiilor;
- observații asupra unor focare „epidemice” la om.

Elementele acestea au sugerat și posibilul rol etiologic al virusurilor în aceste leucemii. Totuși, pînă în prezent nu au putut fi adunate dovezi suficiente nici pentru transmisibilitatea lor, nici pentru etiologia virotică a acestora, mai ales că o asemenea asociere nu reprezintă în mod obligatoriu o relație etiologică, dat fiind faptul că țesuturile neoplazice reprezintă un mediu excelent de multiplicare a virusurilor. În sprijinul teoriei virotice a etiologiei leucemiilor umane există dovezi indirecte, ca de pildă asemănările dintre leucemiile induse de virusuri la animale și leucemiile umane. Gross consideră că oamenii sănătoși pot fi purtători de virusuri cu potențial oncogen, care s-ar transforma în agenți specifici patogeni, ca urmare a intervenției radiațiilor ionizante sau a unor substanțe chimice ce ar destabiliza echilibrul dintre virus și gazdă, ducînd la apariția leucemiilor.

Rolul important al radiațiilor ionizante în apariția leucemiilor reiese studiindu-se:

- frecvența leucemiilor în raport cu utilizarea medicală și industrială a radiațiilor ionizante;
- rolul radiațiilor telurice și atmosferice;
- așa-zisele radioleucemii japoneze.

Primul caz a fost comentat de Von Jagt în 1911, dar dovada peremptorie pentru relația cauză-efect a fost dată numai după 50 de ani de raportul prezentat de Atomic Bomb Causality Commission (1951). În acest interval s-au acumulat observații ca de pildă constatarea că media de viață a medicilor expuși profesional radiațiilor este cu mult mai mică decât a medicilor neexpuși (Seltser și Sartwell). Cercetările americane nu au fost însă confirmate de autorii englezi (Court-Brown, Doll), în investigațiile întreprinse găsindu-se doar 3 cazuri de leucemie la medicii radiologi. Dar această înfirmare nu reprezintă decât confirmarea măsurilor eficiente de protecție împotriva radiațiilor ionizante, introduse în Anglia din 1925. Alte grupe populaționale expuse riscului leucemogen sînt bolnavii iradiați în scop terapeutic, copiii supuși iradierii în perioada intrauterină, muncitorii din instalațiile nucleare.

Cercetările lui Roubault în Franța, Court-Brown în Scoția, Segall în Noua Anglie etc. nu au adus dovezi semnificative relativ la influența posibilă a radiațiilor telurice în geneza leucemiilor.

Dubiul referitor la potențialul leucemogen al radiațiilor ionizante a fost înlăturat de „accidentul” de la Hiroshima și Nagasaki. Acest unic „accident” limitat în spațiu, dorit să fie unic și în timp, are o dublă valoare în studiul etiologiei leucemiilor:

— confirmă ipotezele privitoare la leucemiile radioinduse la radiologi și alte categorii de profesioniști expuse, ca și la modificările hematologice constatate la aceste grupări populaționale;

— precizează efectul leucemogen al unei doze masive de radiații ionizante nemaiîntîlnită pînă atunci la om.

Problema leucemiilor radioinduse pune două întrebări: care este tipul de leucemie determinat de radiațiile ionizante și care este explicația că numai 10/100 din cele cîteva mii de japonezi expuși la Hiroshima și Nagasaki s-au îmbolnăvit de leucemie.

Ca răspuns la prima întrebare Watanabe arată că la persoanele expuse radiațiilor la Hiroshima au fost găsite în perioada 1946—1962, 98 de leucemii acute, din care 3 limfice, 8 leucemii miceloide subacute, o leucemie subacută limfatică, 75 de leucemii granulocitare cronice și două leucemii limfice cronice, iar Tomonaga arată că între 1947—1959 au fost găsite în Nagasaki 87 de leucemii acute și 21 de leucemii granulocitare cronice. În interpretarea acestor date nu se pot trage concluzii definitive, deoarece imediat după bombardamentul atomic un număr de oameni au părăsit orașul, complicînd cercetările ulterioare, pe lângă lipsa de omogenitate a analizelor clinice-hematologice efectuate de echipe diverse. La aceasta se adaugă și particularitatea comună țărilor asiatice, în care leucemia limfatică cronică este practic inexistentă. Faptul că absoluta majoritate a leucemiilor apărute în acest cadru, au fost de tip mieloid este explicat de autorii japonezi prin mecanismul de fixare a izotopilor radioactivi în țesutul osos, celulele măduvei oaselor fiind afectate în mod selectiv de radiații. Watanabe opiniază că o iradiere puternică pe suprafețe limitate ale corpului ar induce formele acute, iar o iradiere „blindă” a întregului corp ar induce forma cronică. La întrebarea privind incidența scăzută a leucemiilor la populația expusă, răspunsul este că unele din victime ar fi avut o sensibilitate crescută sau supraviețuitorii au avut o rezistență crescută la radiații.

S-a observat legătura dintre o expunere îndelungată la benzen în condiții profesionale și apariția leucemiilor. Într-un studiu făcut în Japonia Ishimaru și colab. au dus dovezi relative la riscul pe care îl prezintă benzenul. Din medicamente este incriminat cloramfenicolul. Studiul efectuat la IARC-Lyon sugerează că acest medicament ar fi responsabil pentru apariția anemiei aplastice, care ulterior se transformă în leucemie.

Relativ la intervenția factorului genetic în apariția leucemiilor, Lubiniecki arată că bolnavii cu sindrom Down au un risc crescut pentru leucemii.

Analizînd curba de distribuție a leucemiilor, Miller constată prezența unui vîrf de mortalitate la copiii albi din SUA, caracteristică epidemiologică absentă la copiii negri. După cum se știe, vîrfurile de mortalitate prin leucemie la copiii sub 10 ani este dat de leucemia acută, iar acest tip celular al leucemiei apare cel mai frecvent la copiii cu sindromul Down. La cercetările epidemiologice s-au adăugat și numeroase studii care au pus în evidență așa numiții markeri genetici. King și Petrakis definesc markerii genetici ca fiind o proteină sau fenotip determinat de un singur locus cromozomial cu una sau mai multe alele, avînd o frecvență semnificativă într-o populație de interes oncologic. Din această categorie autorii exclud markerii cromozomiali asociați unor leucemii, exemplu cromozomul Ph¹, respectiv acele proteine care se integrează unor modificări cantitative ale țesuturilor pe care se dezvoltă

tumori, modificări determinate de cauze fiziologice și nu genetice. Sub acest aspect autorii se referă în cazul leucemiilor la următorii markeri: grupele de sânge A și O, antigenul HL-A, unele haptoglobine sau adenoindeaminaza. În legătură cu acest ultim marker s-a constatat că este mai scăzut în limfocitele bolnavilor cu leucemie limfatică cronică decât la oamenii sănătoși.

1.4.6.

Epidemiologia limfoamelor

1.4.6.1.

Epidemiologia limfomului Hodgkin

Studiul epidemiologic este cu atât mai dificil, cu cât cazurile de boală sînt mai puțin numeroase, iar limfomul Hodgkin nu face excepție de la această regulă generală.

Această boală are „tradiție” în cercetarea clinică și epidemiologică, fiind etichetată de la începutul descrierii ei de Sternberg (1898) ca fiind de natură infecțioasă. Vianna (cit. de Davies) sublinia faptul, descris și de alți autori, că limfomul Hodgkin are multe caracteristici ale bolilor infecțioase. Tot Davies a arătat că limfomul Hodgkin este declanșat de un agent sau agenți infecțioși, transmisibili prin contact direct sau indirect, tipurile histologice ale bolii reflectînd o reactivitate diferită în cadrul aceluiași proces patogenetic. Cercetările din domeniul virusologiei au dirijat interesul spre un posibil factor virotic în geneza bolii. Deși asemenea dovezi nu au putut fi făcute pînă în prezent, s-a arătat o posibilă asociere între antigenii leucocitari din grupul HL-A și boală (Zervas, Forbes, Morris). Această asociere ar consta fie într-o susceptibilitate genetică, fie în alterarea genomului celular de către agentul viral. Ipoteza acțiunii virusului herpetic Epstein-Barr în blastogeneza limfomului Hodgkin a fost oarecum demonstrată în forma cu depleție limfocitară, unde s-a găsit un titru crescut de anticorpi anti-virus Epstein-Barr (Johanson). Prin demonstrarea evoluției sezoniere a limfomului Hodgkin, existînd o frecvență deosebită a cazurilor de îmbolnăvire în lunile de iarnă (decembrie și ianuarie), a fost sugerată o evidentă influență a infecțiilor respiratorii, care ar putea fi corelate cu această boală.

Unii autori pledează pentru existența unor focare de limfom Hodgkin, chiar o epidemicitate a bolii, dar dovezile nu sînt definitive.

Caracterul profesional al bolii a fost evidențiat de Millham și Hesser, în sensul frecvenței crescute a acesteia la muncitorii forestieri și tîmplari din Statul New-York. Acheson în Anglia neagă acest factor de risc profesional.

Din punctul de vedere al incidenței limfomului Hodgkin se constată diferențe mici în cazul ariilor geografice studiate.

O rată crescută peste $30/0000$ bărbați și peste $20/0000$ femei este întîlnită la populația albă din SUA (Alabama, Statul New York, Hawaii), Islanda și Israel. O rată medie (între $2-30/0000$ bărbați, respectiv $1,5-20/0000$ femei) este întîlnită în RFG, Suedia, Norvegia, Finlanda, iar o rată scăzută, sub valorile amintite, în Porto-Rico, regiunea rurală a Varșoviei (Polonia), populația japoneză din Hawaii, cea mai scăzută fiind în Japonia.

Diferențele date de extremele incidenței maxime și minime dintre populația albă și cea japoneză din Hawaii, dintre cea din Japonia pe de o parte și SUA, ca și cea din țările Europei pe de altă parte, dintre populația japonezilor imi-

granți în Hawaii și populația din Japonia, sînt date mai mult de factorii de mediu decît de cei genetici. În sprijinul acestei afirmații arătăm că:

— incidența bolii la populația albă din Hawaii este de două ori mai mare ca la imigranții japonezi;

— incidența bolii Hodgkin la imigranții japonezi din Hawaii este de două ori mai mare ca la populația din Japonia.

Raportul masculin/feminin în limfomul Hodgkin este practic de 2/1 în favoarea sexului masculin.

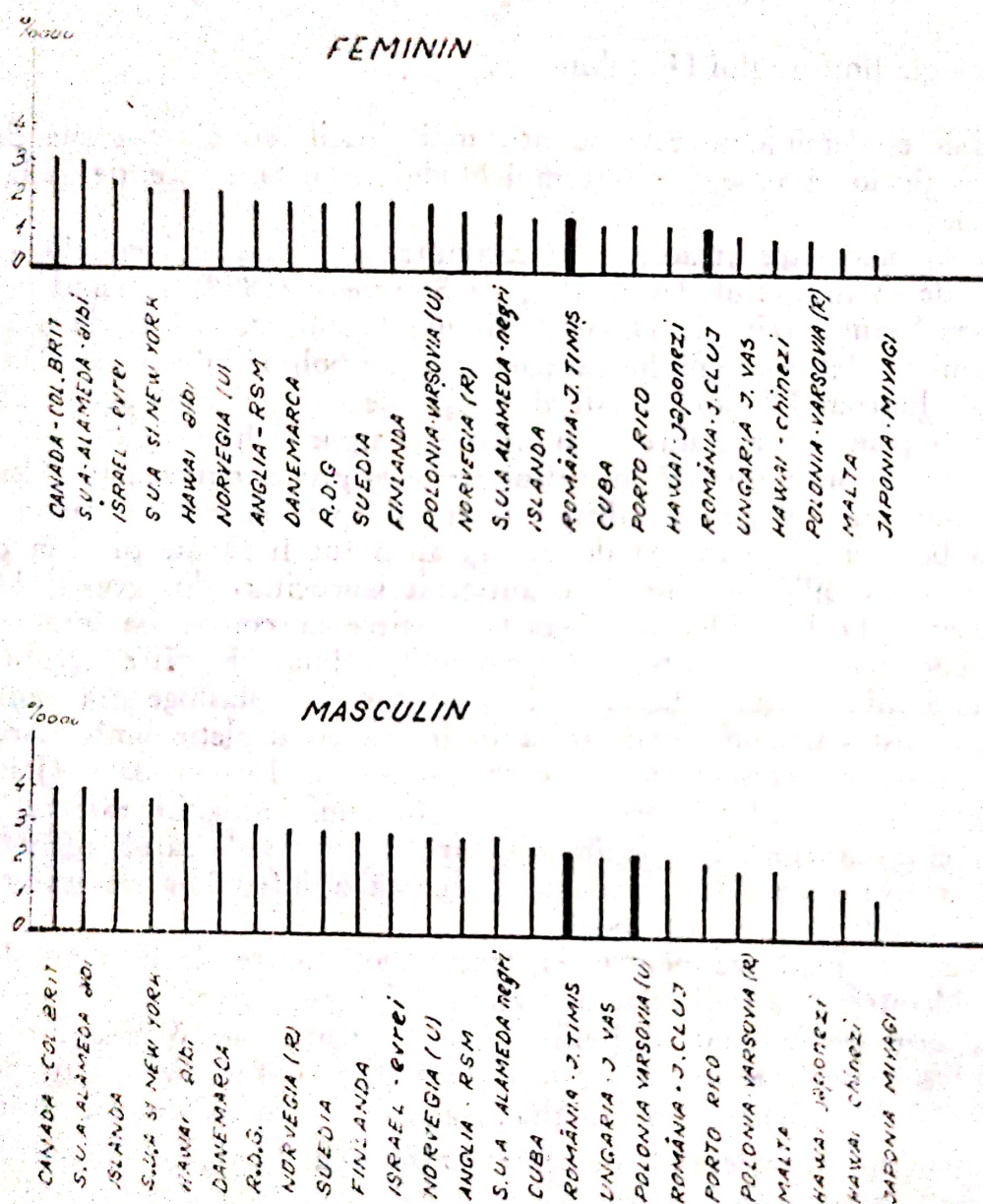


Fig. 1.19. — Incidența limfoamelor Hodgkin în câteva țări și arii geografice.

Raportul urban-rural este controversat. Astfel, în Norvegia limfomul Hodgkin este mai frecvent la bărbații din mediul rural și mai crescut la femeile din mediul urban. În schimb în regiunile rurale ale Varșoviei (Polonia) incidența bolii este mai scăzută, pentru ambele sexe, ca în orașul Varșovia.

Din punctul de vedere al factorilor socio-economici Correa și O'Connor au scos în evidență trei caracteristici:

— În comunitățile cu un standard socio-economic scăzut există o incidență crescută a bolii la copiii sub 15 ani, cu predominanța formelor histologice cu prognostic nefavorabil (exemplu Columbia).

— Comunitățile cu nivel socio-economic ridicat au o incidență mai crescută la adulții tineri, tipurile histologice întâlnite fiind favorabile din punct de vedere prognostic (ex. SUA și unele țări din Europa occidentală).

— Comunități cu nivel socio-economic intermediar (unele țări din Europa centrală).

Limfomul Hodgkin rămâne încă o entitate cu multe necunoscute. MacMahon de exemplu, apreciază că fiecare tip histologic al bolii ar putea fi o entitate nosologică aparte, după cum și unele tendințe evolutive ale bolii sau gruparea acestora pe grupe de vârstă (sub 15 ani, între 15—34 ani și peste 35 ani) ar pleda pentru afecțiuni diferite. Există și autori care nu sînt convinși că boala Hodgkin ar fi un limfom malign, aducînd în sprijinul tezei lor chiar denumirea de limfogranulomatoză! Dar și printre autorii care optează pentru încadrarea bolii Hodgkin în neoplazii există unii care pledează pentru originea infecțioasă a bolii.

Toate aceste controverse legate de limfomul Hodgkin necesită cercetări conjugate în viitor.

1.4.6.2.

Epidemiologia limfoamelor maligne nehodgkiniene

În cadrul epidemiologiei descriptive a limfoamelor nehodgkiniene se disting două aspecte determinate de curba de distribuție a ratelor de incidență a acestor boli în raport cu grupele de vârstă:

a) rate foarte crescute ale incidenței în grupa de vârstă a primei copilării (între 5—10 ani) date în special de limfomul Burkitt,* valori foarte scăzute ale grupelor de vârstă intermediare, urmate de creșterea nivelului acestora, în special după 45 de ani, spre valori maxime, situație comună unor țări din regiunile subtropicale ale Africii, ca de pildă Nigeria;

b) rate foarte scăzute ale vârstei copilăriei, o ușoară creștere pentru grupele de vârstă intermediare, ajungînd în mod progresiv la un nivel maxim de bătrînețe (70—75 de ani), situație comună restului de arii geografice studiate.

Demonstrăm acest fenomen prin figura 1.20 în care sînt prezentate curbele de distribuție a limfoamelor nehodgkiniene în Nigeria-Ibadan comparativ cu populația neagră și albă din SUA (Michigan-Detroit) și România (județul Cluj). Potrivit graficului se constată că populația neagră din SUA are o curbă de distribuție a incidenței practic identică cu populația albă și cu cea din România (jud. Cluj) și se deosebește net de populația africană din Nigeria. Există deci alți factori decît cei genetici care ar putea să explice apariția acestui tip de limfom atît de frecvent în Africa. Prin caracteristicile sale clinice și patologice, limfomul Burkitt se plasează ca o entitate clinică distinctă în raport cu restul limfoamelor sau limfosarcoamelor ce survin în copilărie. Incidența maximă a bolii este între 5 și 10 ani, scăzută sub 3 ani, urmată de o cădere rapidă a curbei de distribuție după 10 ani.

* Limfomul Burkitt, din punct de vedere histologic, este un tip nediferențiat de reticulosarcom.

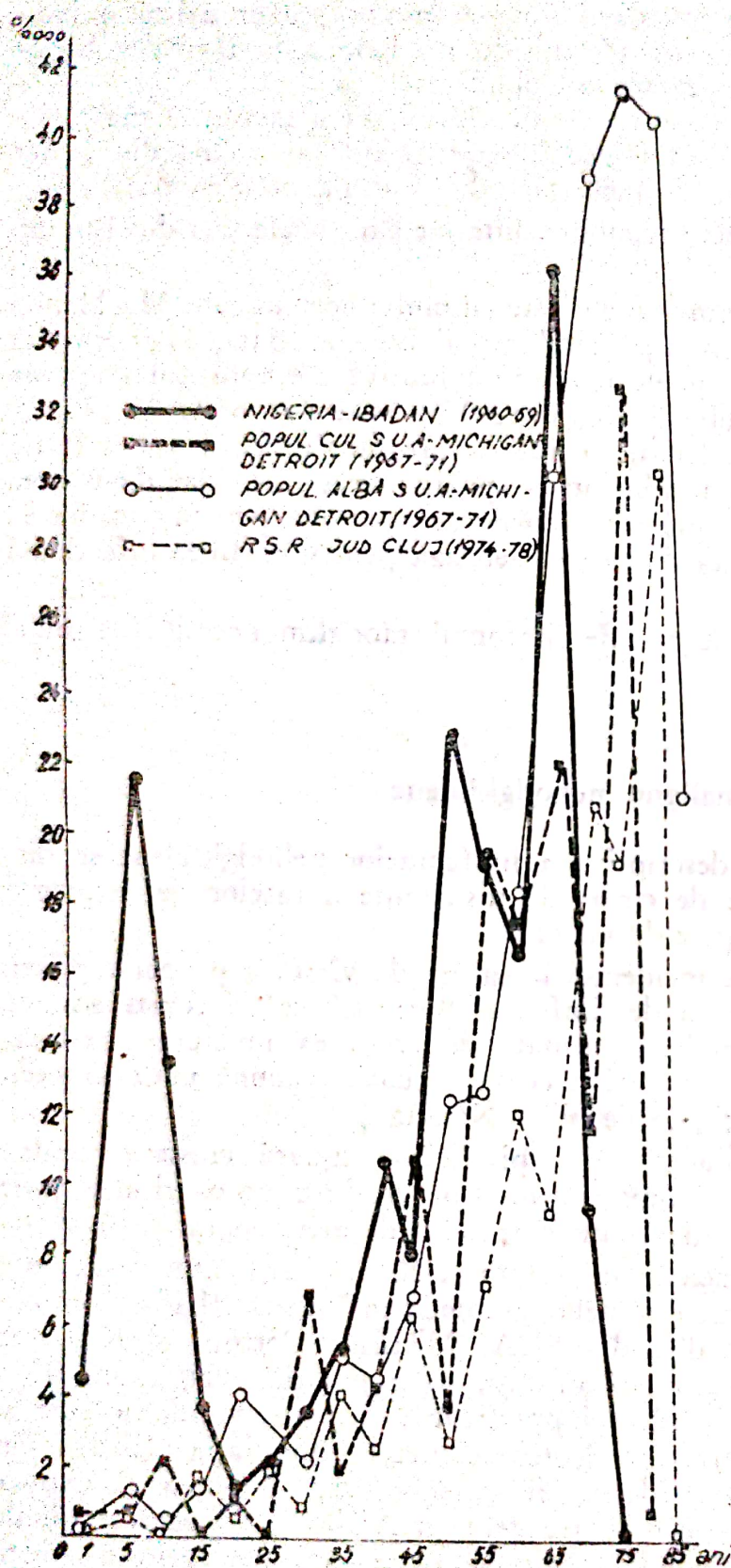


Fig. 1.20. — Distribuția pe grupe de vîrstă a incidenței limfoamelor nehodgkiniene (sex masculin) în unele țări și arii geografice.

Totuși boala a fost descrisă și la tineri și adulți, precum și la unele mame tinere care alăptau. Imigranții adulți pot contracta boala dacă se stabilesc în regiunile geografice cu incidență crescută. În Africa boala Burkitt este limitată la regiunile geografice tropicale și subtropicale cu umiditate crescută (precipitații de peste 508 mm/an) și o temperatură medie de peste 16°. Distribuția teritorială specifică, ca și alte caracteristici ale bolii duc la ipoteza că limfomul Burkitt ar putea fi indus de un virus vehiculat de țînțari, de la omul bolnav la cel sănătos. Din aceste tumori au fost izolate mai multe virusuri, dar nici unul n-a putut fi dovedit că ar fi agentul etiologic al bolii. De altfel ipoteza etiologiei virotice a limfomului Burkitt a fost emisă după descoperirea lui Epstein și colab. a unui herpes virus în culturile de țesuturi ale limfomului Burkitt. Revenim cu precizarea că această asocieră cu virusul herpetic Epstein-Barr, nu implică în mod obligatoriu o relație etiologică, țesuturile tumorale fiind cunoscute ca medii excelente pentru multiplicarea virusurilor. Un titru crescut de anticorpi anti-virus herpetic Epstein-Barr a fost găsit și la indivizii sănătoși, dovedindu-se prin aceasta că infecțiile cu asemenea virusuri sînt destul de frecvente și în sînul populației normale. Studiile sero-

epidemiologice ale lui De-Thé, Geser și Day de la IARC Lyon au dat rezultate concludente privitor la ipotezele etiologiei virotice a limfomului Burkitt în interacțiune cu alți factori de mediu: climatul și malarie. Au fost semnalati și alți factori cu rol etio-patogenic, ca de pildă unele stări imunodeficitare și boli autoimune (artrita-reumatoidă, sindromul Sjögren, lupusul eritematos, ataxo-telangiectazia).

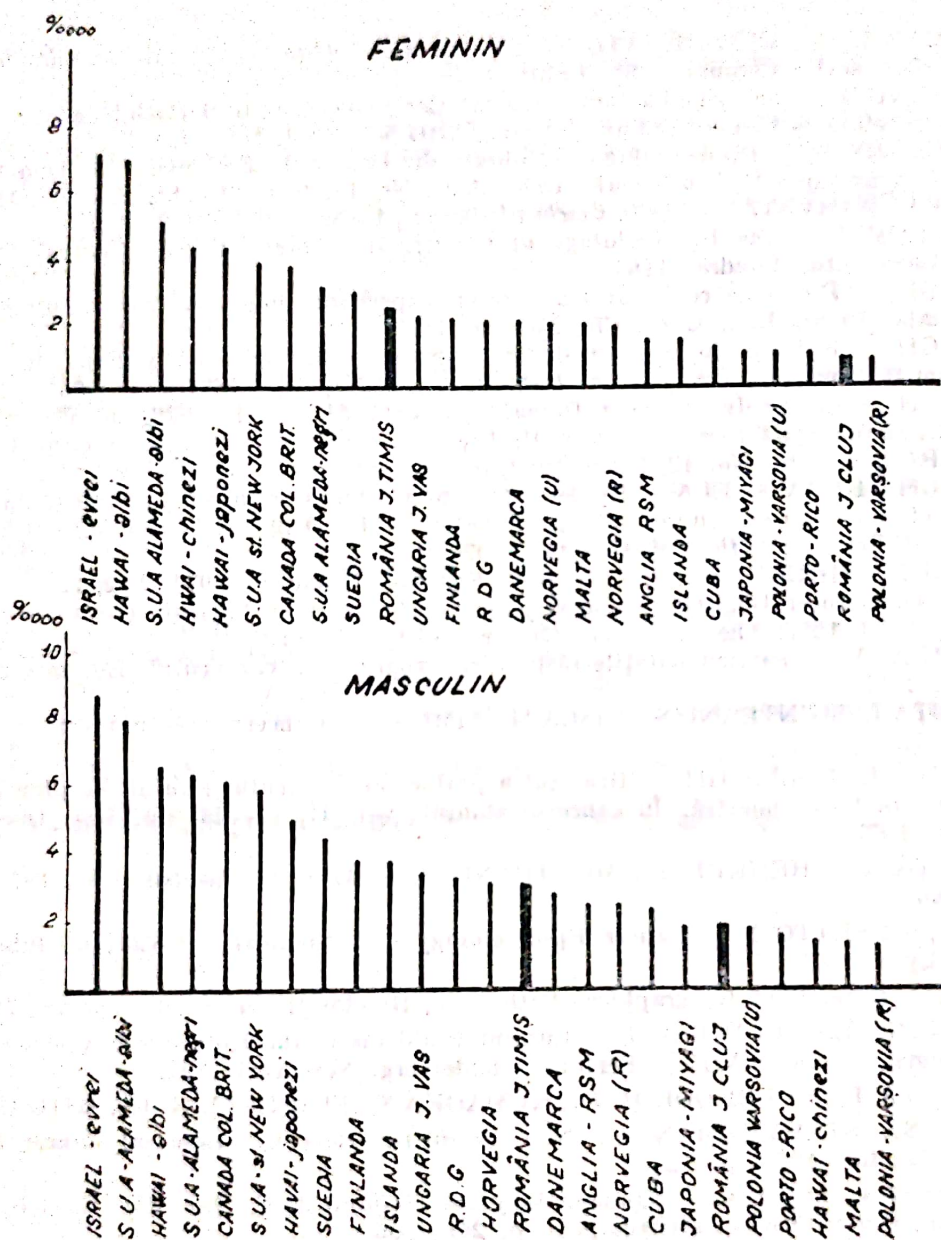


Fig. 1.21. — Incidența limfoamelor nehodgkiniene în unele țări și arii geografice.

Potrivit grupării noastre se disting arii geografice cu o rată crescută a incidenței, peste 50/0000 pentru bărbați și peste 30/0000 femei (Israel, toată populația evreiască; SUA, populația albă din Alabama, Statul New York etc.) cu rată medie între 2—50/0000 bărbați și 1—30/0000 femei (Suedia, RDG,

Cuba, România-jud. Timiș etc.) și cu rată scăzută sub $20/0000$ bărbați și sub $10/0000$ femei (Japonia-Miyagi, Porto-Rico, România-jud. Cluj etc.).

După cum se vede, acest tip de limfoame are o frecvență mai mare la bărbați.

Bibliografie

- ACKERMAN L. V., DEL REGATO J. A. — Cancer: Diagnosis, Treatment and Prognosis. The C. V. Mosby Company, St. Louis, 1970
- ARMSTRONG B. — Endocrine Factors in Human Carcinogenesis; In Bartsch H. & Armstrong B. — Host Factors in Human Carcinogenesis, IARC Sci. Publ. No. 39, 193–221, Lyon, 1982
- BARTHELEMY C. — Epidémiologie, étiologie du cancer de l'estomac. In: Donath A. et colab. — Chronique Médico-Sociale. Cah. Méd., Nr. 15, 909–912, St. Etienne, 1977
- BERNDT L. MARWITZS — Arch. Geschwulstforsch., 1968, 32, 1–2, 137–147
- BERENBLUM I. — The Epidemiology of Cancer, In: Florey H., ed. General Pathology Lloyd-Luke, Ltd. Londra, 1964
- BOLBA GH. — Problema registrului de cancer: experiența județului Cluj, Comunicare Ses. șt. anuală (1976), Inst. Onc., Cluj-Napoca, 1977
- BOLBA GH. — Epidemiologia și patologia geografică a hemopatiilor maligne, În: Cancerul — hemopatii maligne, vol. 10, Ed. Inst. Onc. Cluj-Napoca, 1982, p. 17–36
- BOLBA GH. — Cancer Incidence in Romania, County Cluj 1974–1978, In: Waterhouse J., Muir C., Shanmugaratnam K., & Powell, J. eds, Cancer Incidence in Five Continents, vol. IV, IARC Sci. Publ. No. 42, Lyon, 1982, p. 522–525.
- BOLBA GH., BARA ADELA — Epidemiology of Gastric Carcinoma in Transylvania — Directory of on going research in smoking and health — US Dept. HEW Public Health Service, US Gov't Printing Office, Washington, 1978
- BOLBA GH., CHIRICUȚĂ I. — Med. Biol. Environ., Bruxelles, 1976, 3, 2, 12
- * * * — The Cancer Registry in Norway Survival of Cancer Patients Cases Diagnosed in Norway 1953, 1967. The Norwegian Cancer Society Oslo, 1975
- CEAKLIN A. V. — Particularitățile răspîndirii geografice a cancerului, Ed. medicală, București, 1965
- CHIRICUȚĂ I., MUNTEANU S., RIȘCĂ M., SIMU G. — Cancerul colului uterin, Ed. Dacia, Cluj, 1972
- CHIRICUȚĂ I., BOLBA GH. — Gravitatea problemei cancerului sinului pe plan mondial: situația din țara noastră. În cancerul sinului, vol. II, 17–28, Ed. Inst. Oncol. Cluj-Napoca, 1977
- CHIRICUȚĂ I., FRENKEL Z., MUNTEANU S. — Arch. Geschwulstforsch., 1974, 44, 3, 260–266
- COLE P., REPETTO F. — Cancer Epidemiology — A Summary of Current Information, IARC, Lyon, 1978
- DOLL R. — Methods of Geographical Pathology, Blackwell Sci. Publ., Oxford, 1959
- GRUNDMANN L., TULINIUS H. — Current Problems in the Epidemiology of Cancer and Lymphomas. Springer Verlag, Berlin — Heidelberg, New York, 1972
- HAYWARD J. L., BULBROOK R. D., KUMAOKA S., FRIEDEL G. H., SOTO H., TEMPLETON S., STEMMERMAN G. N. — Scientific Report — Imperial Cancer Research Fund., Londra, 1976, p. 124
- HIGGINSON J., MUIR C. — Epidemiology In: Holland J. F., Frei III, E., eds., Cancer Medicine, Lea & Fibiger, Philadelphia, p. 241–306
- KESSLER I. I. — Cancer Res., 1974, 34, 1 091–1 110
- KNOWLEDEN J., MARK T., PHILLIPS A. J. — UICC Tehn. Rep. Series, 1970, 5, 1–42 Geneva
- LOGAN W. P. D. — Chronic O.M.S., 1976, 29, 505–514
- MULVIHILL J. J., MILLER R. W., FRAUMENI jr. J. F. — Genetics of Human Cancer, Raven Press, New York, 1977
- MILLER A. B. — UICC Bulletin Cancer, 1973, 11, 2, 1–2, Geneva
- MILLER A. B. — Canad. Med. Ass. J., 1978, 119, 401–404

- MUNTEANU S. — Epidemiologia — etiologia cancerului colului uterin. În: Cancerul colului uterin, vol. 1, 11—25., Ed. Inst. Oncol., Cluj-Napoca, 1976
- MUNTEANU S. — Epidemiologia cancerului mamar. În: Cancerul sinului, vol. 2, 29—45, Ed. Inst. Oncol. Cluj-Napoca, 1977
- MUNTEANU S., RIȘCĂ M. — Cancerul sferei genitale feminine în „Cancerul — Oncologia comparată”, vol. VI, 107—145, Ed. Inst. Oncol. Cluj-Napoca, 1981
- NAIB Z. N., NAIMIAS A. J., JOSEY W. E., KRAMER J. H. — *Cancer*, 1969, 23, 940—945
- NG B. A., REAGAN W. J., YEN S. C. S. — *Obstel. Gynecol.*, 1970, 36—645
- SCHOTTENFELD D., HAAS J. F. — Epidemiology of Gastric Cancer. In: Lipkin M., Good R. A. — *Gastrointestinal Tract Cancer*, 173—206, Plenum Publishing Corporation New York, 1978
- SCHOTTENFELD D., HAAS J. F. — Epidemiology of Colorectal Cancer. Lipkin M., Good R. A. — *Gastrointestinal Tract Cancer*, 207—240, Plenum Publishing Corporation-New York, 1978
- SEGI M. — Age-adjusted Death Rates for Cancer for Selected Sites (A-Classification) in 51 Countries in 1974, Nagoya-Japan, 1979
- SILVERBERG G. — *Cancer J. Clin.*, 1981, 31, 1
- SINGER A., REED B. L. — *Contemp. Obstet. Gynec.*, 1979, 13, 4, 173—180
- SPARLING P. F. — *Advanc. Intern. Med.*, 1979, 24, 203
- THIRY L. — *Bull. Cancer (Paris)*, 1979, 66, 4, 391—394
- * * * — UICC — Symposium in Geographical Pathology and Demography of Cancer, vol. 7, Special number 1, Swets — Zeitlinger NV-Amsterdam, 1951
- * * * — UICC — Clinical Oncology, Ed. Committee on Professional Education of UICC, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1973
- VINCENT P. C. — The Nature of Leukaemia. Australian Cancer Society, Sydney, 1972
- DE WAARD F. — *Review and Prospects*, 1969, 4, 577—586
- WAKISAKA G., UCHINOKO H., YASINAGA K., NAKAMURA J., SAKURAI M., MIYAMOTO K., YOSHINO T., MORIGA M. — *Path. et Microbiol.*, (Basel), 1964, 27, 671—696
- WATERHOUSE J., MUIR C., CORREA P., POWEL J. — Cancer Incidence in Five Continents, vol. 3, IARC Sci. Publ. No. 15, Lyon, 1976
- WATERHOUSE J. — *Excerpta med. (Amst.)*, 1980, 309—340
- WEISBURGER J. H., REDDY B. S., IOFTES D. L. — Colo-Rectal Cancer, UICC Techn. Rep. Series, vol. 19, 4—33, Geneva, 1975
- WYNDER E. L., MANTEL A., LIKLINDER S. D. — *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 1960, 79, 1 026
- YAMAGATA S., HISAMICHI S. — *Wld. J. Surg.*, 1979, 3, 663—669

2.

Epidemiologia cancerului în România

GH. BOLBA

Cuprins

- 2.1. Trecutul sau începuturile epidemiologiei cancerului în România — 55
- 2.2. Situația actuală a neoplaziilor maligne în România — 59
 - 2.2.1. Cancerul cavității bucale și faringelui — 62
 - 2.2.2. Cancerul esofagului — 62
 - 2.2.3. Cancerul stomacului — 64
 - 2.2.4. Cancerul colonului și rectului — 68
 - 2.2.5. Cancerul laringelui — 70
 - 2.2.6. Cancerul bronho-pulmonar — 72
 - 2.2.7. Cancerul oaselor — 73
 - 2.2.8. Cancerul pielii — 73
 - 2.2.9. Cancerul sinului — 75
 - 2.2.10. Cancerul colului uterin — 78
 - 2.2.11. Cancerul corpului uterin sau al altor părți ale uterului — 80
 - 2.2.12. Cancerul ovarului — 80
 - 2.2.13. Cancerul prostatei — 82
 - 2.2.14. Leucemiile — 83
 - 2.2.15. Neoplaziile maligne limfatice și hematopoietice — 84
- 2.3. Tendințele evolutive ale neoplaziilor maligne în România — 85
- 2.4. Evoluția mortalității principalelor localizări pe sexe — 88
 - 2.4.1. Sexul feminin — 88
 - 2.4.2. Sexul masculin — 91

Pare paradoxal, dar ori de câte ori se abordează la noi o problemă de epidemiologie și de patologie geografică a cancerului, se recurge de regulă la exemplificări și enumerări de date din țări sau arii geografice extrem de îndepărtate (SUA, Japonia, Hawaii etc.), și mai puțin sau chiar deloc la cele din România. Explicația acestui paradox o dă existența a numeroase date statistice, lucrări și cercetări în domeniul epidemiologiei și patologiei geografice a neoplaziilor, în general în SUA, dar nu numai acolo, în raport cu cele existente al noi. În susținerea acestei afirmații arătăm că în tot intervalul deceniului al V-lea al secolului nostru — în ordine cronologică — numai Racoviță, Rîmneanu și Georgescu au publicat studii de acest gen.* Cea mai importantă

* Raritatea studiilor epidemiologiei cancerului în România, pentru perioada anilor 1946—1960 este semnalată și în „Bibliography on the Epidemiology of Cancer” editată de OMS, care conține doar 4 titluri pentru România din totalul de 2 671 studii de acest gen efectuate în 108 țări ale lumii. Și, bineînțeles, o lucrare din cele 4 aparține lui Georgescu D.C. și colab.

lucrare din perioada amintită este fără îndoială monografia lui Georgescu „Mortalitatea prin tumori maligne în România”, lucrare de referință în studiul epidemiologiei și patologiei geografice a cancerului în țara noastră. Îndrăznesc să afirm că pentru România — în acest domeniu — numele lui Georgescu D.C. este de rezonanță lui Rigoni Stern pentru începutul epidemiologiei cancerului în Italia sau a lui August Hirsch pentru patologia geografică a cancerului în Germania. Apreciez de asemenea că, până în prezent nici o lucrare de epidemiologie relativă la neoplaziile maligne în România nu a depășit valoarea teoretică și informațională a lucrării menționate. Valoarea teoretică rezultă din metodologia cercetării epidemiologice care se reflectă în întregul cuprins al lucrării, iar cea informațională prin multivalența și prin acuratețea datelor prezentate. În sfârșit, trebuie să admitem și în prezent actualitatea lucrării, deoarece nici un studiu epidemiologic al cancerului în România nu poate fi înțeles pe deplin dacă nu-l raportăm la datele părintelui epidemiologiei și patologiei geografice a cancerului din România.

Pentru o mai bună înțelegere vom sistematiza lucrarea în trei secțiuni:

— trecutul sau începuturile epidemiologiei cancerului în țara noastră, cuprinzând perioada anilor 1931—1939;

— situația actuală, cuprinzând cele mai recente date publicate de OMS sau prezentate de Comisia de Specialiști pentru Cancer din Ministerul Sănătății (perioada anilor 1978, 1981);

— tendințele evolutive ale cancerului în România.

Se cuvine în prealabil să semnalăm importanța atribuită atât de Rîmneanțu, cât și de Georgescu, sistemului informațional în cancer reprezentat în perioada dată de buletinul de deces, ca suport informațional, clasificării internaționale a cauzelor de deces (revizia a 4-a adoptată în 1929 pe plan internațional, dar introdusă la noi în anul 1932) și ale organizării și modernizării aparatului statistic prin înființarea în anul 1931 a Institutului Central de Statistică a României, ca tot atâtea elemente esențiale în studiul epidemiologiei cancerului.

2.1.

Trecutul sau începuturile epidemiologiei cancerului în România

În România antebelică rata medie a mortalității perioadei 1931—1939 a fost de 41,90/000 locuitori (sexe întrunite), crescînd de la 38,80/000 la 47,90/000 în 1939. Decesele prin cancer pentru perioada dată reprezentau doar 2% din mortalitatea prin toate cauzele de deces, ocupînd locul 10 din cele 18 grupe ale clasificării internaționale a cauzelor de deces, principalele cauze de deces fiind în ordinea importanței: 1) bolile aparatului respirator, inclusiv tuberculoza pulmonară: 354,7; 2) bolile primei copilării: 362,1; 3) senilitatea: 311,1; 4) bolile infecțioase și parazitare.

În comparație cu alte țări, România anului 1930 ocupa locul ultim din 36 țări europene din punctul de vedere al ratei mortalității prin cancer (Rîmneanțu), aceeași situație fiind semnalată și pentru perioada 1931—1938 (Georgescu), cînd ocupă tot ultimul loc dintr-o grupare de 10 țări europene și Statele Unite ale Americii.

Sexul feminin a fost cel mai afectat, cu 59,1% din toate decesele prin cancer, după cum mediul urban prezintă o rată mult crescută a mortalității

TABELUL 2.1.

REPARTIȚIA DECESELOR PRIN TUMORI MALIGNE ÎN ROMÂNIA, PE SEXE ȘI MEDII - ANII 1935 - 1936 ÎMPREUNĂ
(D.C. GEORGESCU, MODIFICAT)

CIB Rev. IV - 1929	Localizarea	Total		Masculin		Feminin		Urban		Rural						
		C. abs. a)	% (10000)	C. abs. b)	% (10000)	C. abs. c)	% (10000)	C. abs. d)	% (10000)	C. abs. e)	% (10000)					
45-53	Teate	16 618	43,3	100	6 820	36,1	100	9 798	50,2	100	7 113	99,8	100	9 505	30,4	100
45	Cavitate bucală și faringe	420	1,1	2,5	321	1,7	4,7	99	0,2	1,0	132	1,9	1,8	288	0,9	3,0
46	Tub digestiv și peritoneu	8 726	22,7	52,5	4 597	24,3	67,4	4 129	21,2	42,1	3 881	54,5	54,6	4 845	15,5	51,0
47	Aparat respirator	739	1,9	4,4	519	2,8	7,6	220	1,1	2,2	445	6,2	6,3	294	1,0	3,1
48	Uter	3 427	8,9	20,6	Inaplicabil	Inaplicabil		3 427	17,6	35,0	1 254	17,6	17,6	2 173	7,0	22,9
49	Alte organe genitale feminine	164	0,4	1,0	Inaplicabil	Inaplicabil		164	0,8	1,7	104	1,4	1,5	60	0,2	0,6
50	Sîn	650	1,7	3,9	12	c)	0,2	638	3,3	6,5	295	4,1	4,1	355	1,1	3,7
51	Organe genito-urinare masculine	405	1,1	2,4	405	2,1	5,9	Inaplicabil			244	3,4	3,4	161	0,5	1,7
52	Piele	479	1,2	2,9	262	1,4	3,8	217	1,1	2,2	125	1,8	1,8	354	1,1	3,7
53	Alte organe (masculin + feminin)	1 608	4,2	9,7	704	3,7	10,3	904	4,6	9,2	633	8,9	8,9	975	3,1	10,3

NOTĂ: a) = cifrele absolute reprezintă suma deceselor în anii 1935-1936.

b) = indicele de mortalitate reprezintă valoarea medie din cei doi ani.

c) = indice cu valoarea sub 0,1‰.

canceroase în raport cu cel rural atît la bărbați (82,5 față de 25,3⁰/000), cît și la femei (116,8 față de 35,2⁰/000).

Distribuția pe grupe de vîrstă a deceselor prin cancer, descrie o curbă care crește în raport direct cu vîrstă.

În privința localizării anatomice a cancerului, clasificarea internațională a cauzelor de deces, revizia a 4-a, utilizată în această perioadă nu constituie o diviziune detaliată, ci doar grupări de organe sau aparate (exemplu tubul digestiv și peritoneu, aparat respirator, organe genito-urinare masculine etc.), impediment major în evaluarea tendințelor evolutive a cancerului în România, pentru fiecare organ (stomac, plămîn etc.), sau parte de organ (colul uterin, corpul uterin, luate separat) (tabelul 2.1).

Tumorile maligne ale tubului digestiv ocupă locul I atît la bărbați (67,4⁰/000 din toate cancerurile), cît și la femei (42,1⁰/000). Ar fi deosebit de important să se cunoască situația pe organe îndeosebi pentru stomac, colon și rect, pentru o evaluare epidemiologică de durată. Un calcul estimativ al proporției cancerului gastric, în cadrul cancerelor tubului digestiv, ținînd seama de datele din anii 1969, 1971 și 1973, permite o aproximare de peste 66⁰/000 pentru bărbați și de 80⁰/000 pentru femei.

Tumorile maligne ale uterului (toate părțile) avînd un indicator de 17,6⁰/000 femei ocupă locul 2, cu 35⁰/000 din totalul cancerelor la femeie, mai frecvent în mediul urban (35⁰/000) decît în rural (13,6⁰/000).

Tumorile maligne ale aparatului respirator cu o rată a mortalității de 2,8⁰/000 bărbați și de 1,1⁰/000 femei sînt de asemenea mai frecvente în mediul urban, decît în cel rural atît pentru sexul masculin, cît și pentru cel feminin.

Într-o perioadă de observație relativ scurtă, Georgescu și Rîmneanu atrag atenția asupra creșterii progresive a neoplaziilor maligne în țara noastră.

Din punctul de vedere al patologiei geografice se consemnează frecvența mai crescută a cancerului în Nordul și Vestul țării (Transilvania, Bucovina și Banat). În cartograma nr. 1 reprezentînd teritoriul actual al României, dar cu vechea împărțire administrativă pe județe, se observă clar acest fenomen. Diferențele constatate în distribuția cancerului sînt atît de ordin subiectiv, datorită unei mai bune înregistrări a deceselor prin cancer (a se vedea densitatea mai mare în jurul centrelor universitare București, Cluj, Iași sau a unor orașe importante ca Brașov și Timișoara), dar și de ordin obiectiv (structura populației pe grupe de vîrstă, grad de urbanizare, factori socio-economici și genetici, mod de viață, în special unele obiceiuri alimentare etc.).

Citîndu-l pe Georgescu D.C., acesta arată că „... provinciile țării noastre se pot împărți în două grupe: pe de o parte provinciile Vechiului Regat, în care proporțiile deceselor prin cancer se află sub media generală a țării (41⁰/000 locuitori ambele sexe), de altă parte provinciile de dincolo de Carpați împreună cu Bucovina, în care aceeași proporție se ridică asupra mediei (pe țară n.n.), această observație fiind valabilă atît pentru totalul (populației n.n.) fiecărei provincii în parte, cît și pentru cele două medii, urban și rural”.

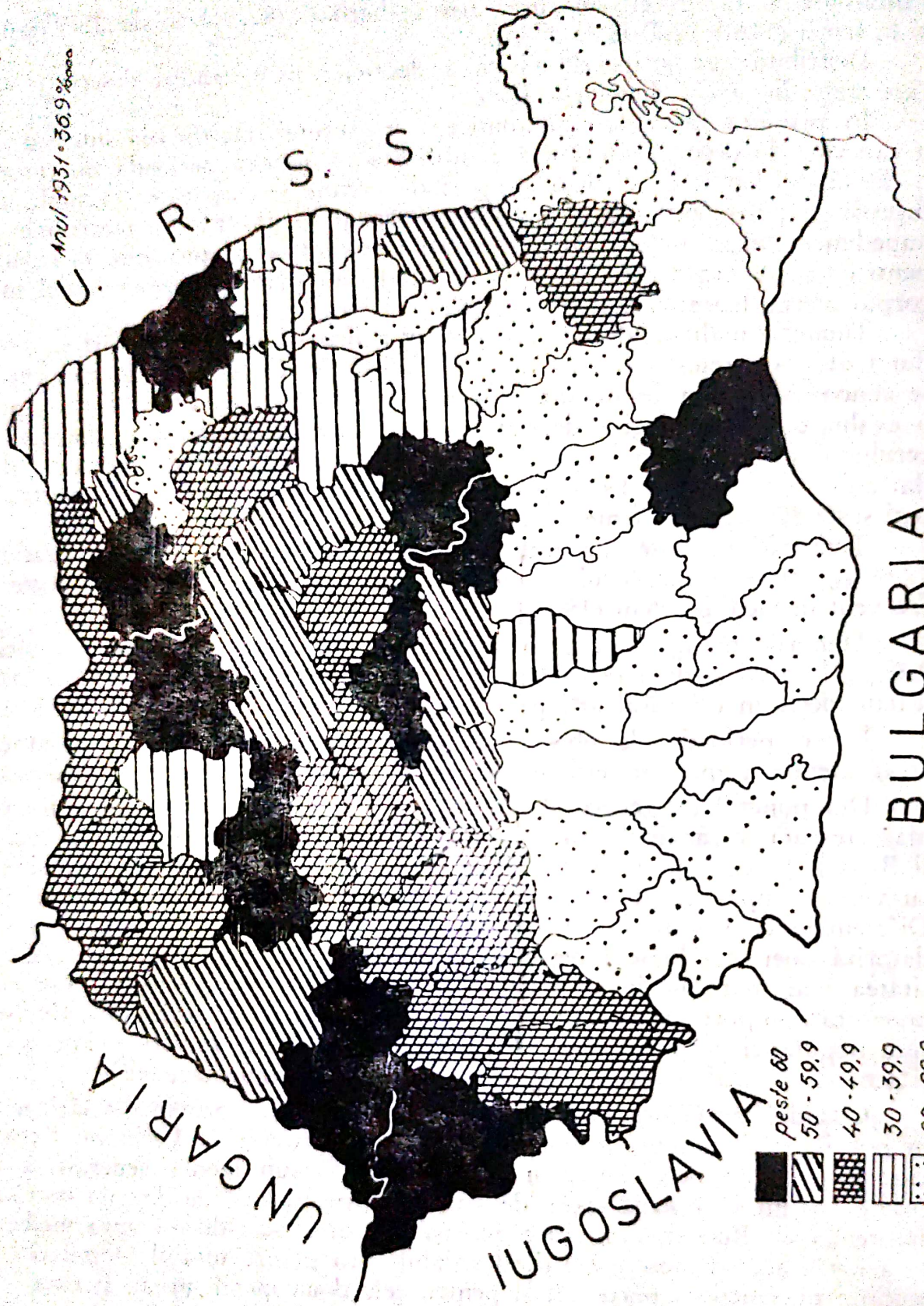
Explicația fenomenului este dată de autorul citat:

- diferențe în gradul de urbanizare a provinciilor;
- frecvența redusă a asistenței medicale, deci a unui diagnostic insuficient;
- diferența în structura de vîrstă a populației diferitelor județe sau alți factori etnogenetici și socio-economici amintiți anterior.

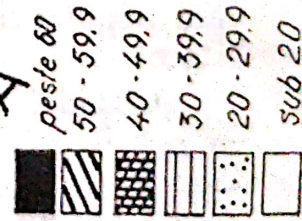
ROMÂNIA

DISTRIBUTIA MORTALITĂȚII PRIN CANCER - TOATE LOCALIZĂRILE - LA 100 000 LOC. -
SEXE ÎNTRUNITE DUPĂ ÎMPĂRȚIREA ADMINISTRATIVĂ DIN ANUL 1936 (MEDIA ANILOR 1931-1936)

Anul 1931-36,9‰
10000



CARTOGRAMA
NR. 1

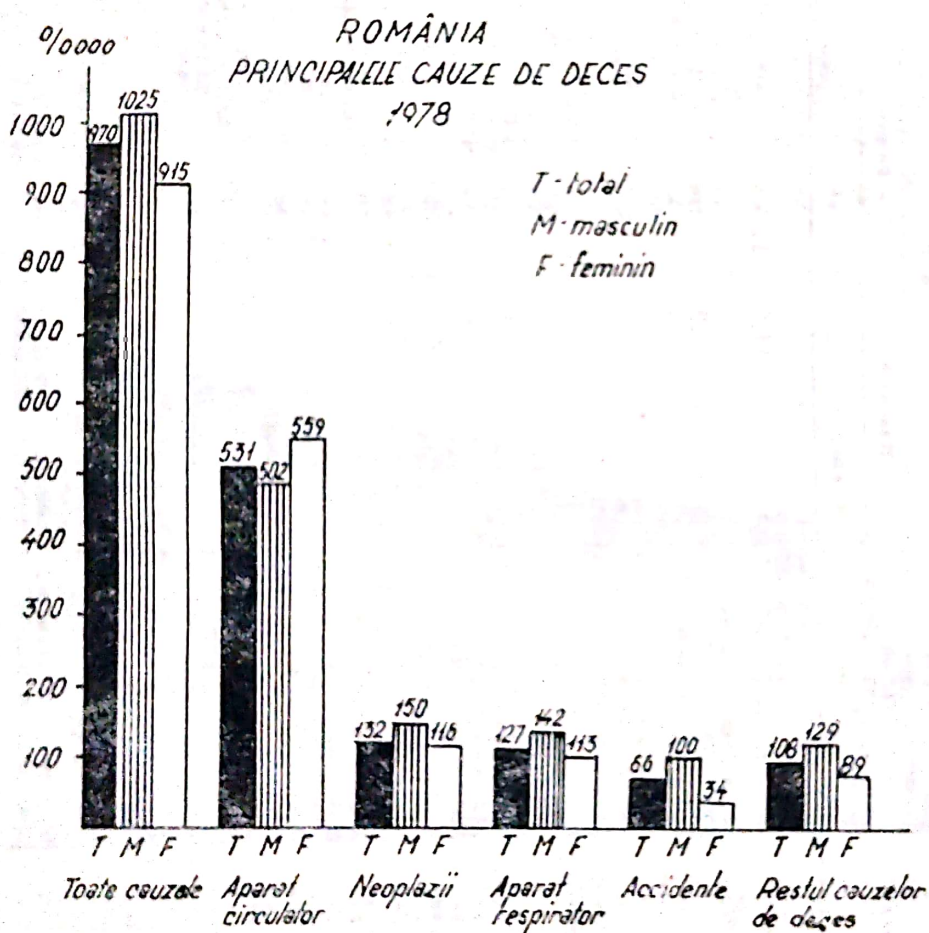


Pentru a încheia acest capitol semnalăm lucrarea lui Ionescu N.T., „Cancerul în România” — Recherches statistiques sur la mortalité par le cancer en Roumanie” stabilimentul grafic Dr. P. Cucu, București 1915, despre care Georgescu afirmă că „cele mai vechi cifre cunoscute se referă la perioada 1906—1913, cînd mortalitatea prin cancer a fost în medie de 68⁰/0000 în sînul populației urbane a „Vechiului Regat”.

2.2.

Situația actuală a neoplaziilor maligne în România

După succinta trecere în revistă a principalelor aspecte ale epidemiologiei și patologiei cancerului în România anilor 1931—1939, vom analiza situația cancerului din țara noastră, așa cum se prezintă după 50 de ani și care este cuprinsă în tabelul nr. 2. II privind „mortalitatea prin neoplazii maligne în România”, pe localizări, sexe și medii la 100 000 locuitori în anul 1981.



(Sursa WHO STATISTICS 1980 GENEVA).

Fig. 2.1. — Principalele cauze de deces în România, anul 1978.

Cînd ne referim la „situația actuală” înțelegem de fapt o perioadă de timp de 3—5 ani, pentru o cît mai corectă evaluare a datelor și a evitării interpretării eronate a unor fenomene statistic-demografice întîmplătoare.

Începînd din anul 1978 neoplaziile maligne în România ocupă locul II ca frecvență, urmînd deceselor prin bolile aparatului cardio-vascular (fig. 2.1).

MORTALITATEA PRIN NEOPLAZII MALIGNE ÎN ROMÂNIA PE LOCALIZĂRI, SEXE ȘI MEDII LA 100 000 LOCUITORI - 1981

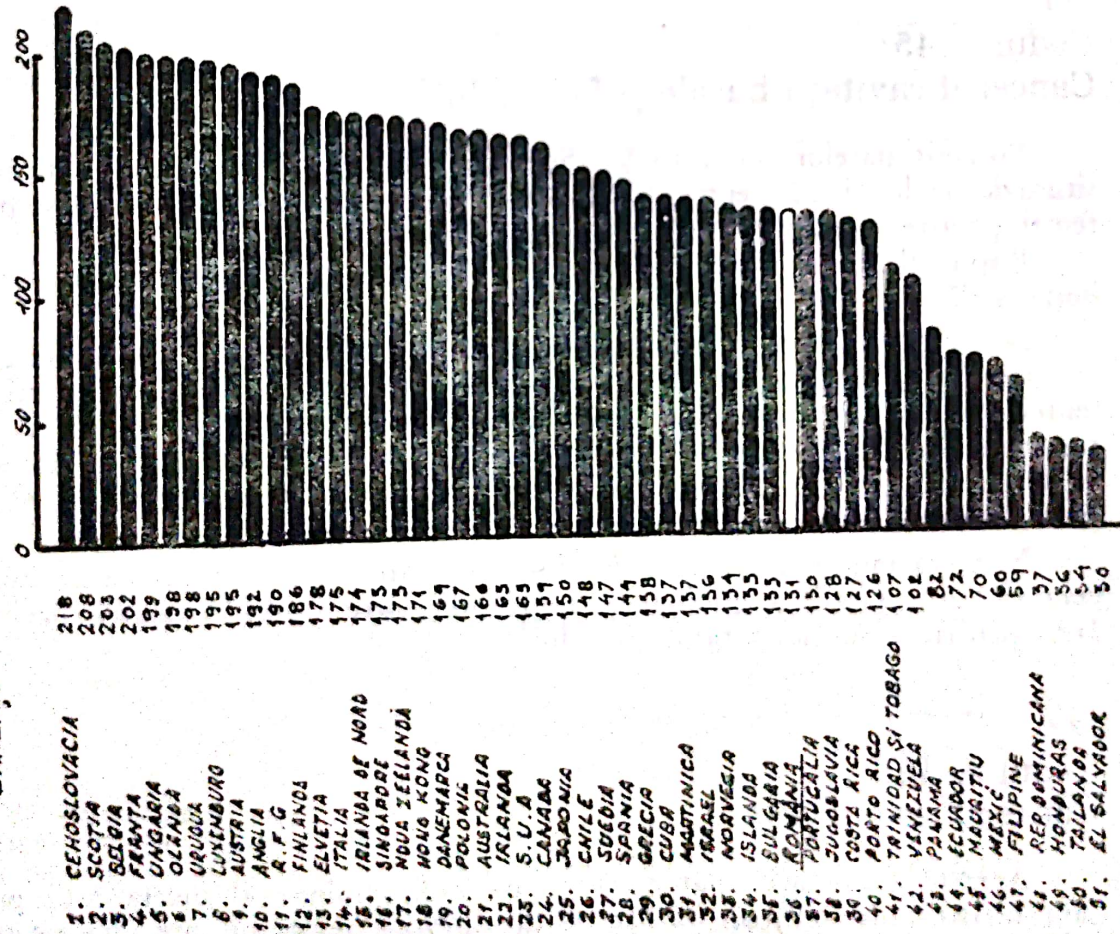
CID Lista A-1965	Localizarea	Total		Sex				Mediu			
		C. abs.	‰/1000	Masculin		Feminin		Urban		Rural	
				C. abs.	‰/1000	C. abs.	‰/1000	C. abs.	‰/1000	C. abs.	‰/1000
A45- A 60	Toate localizările	28 344	126,8	15 951	144,6	12 393	109,5	14 179	133,2	14 165	121,0
A 45	Cavitatea bucală și faringe	698	3,1	535	4,9	163	1,4	334	3,1	364	3,1
A 46	Esofag	279	1,3	208	1,9	71	0,6	124	1,2	155	1,3
A 47	Stomac	4 513	20,2	2 971	26,9	1 542	13,6	1 786	16,8	2 727	23,3
A 48	Intestin inclusiv junctiunea recto-sig- moidiană	1 193	5,3	587	5,3	606	5,3	684	6,5	509	4,3
A 49	Rect	972	4,4	502	4,6	470	4,2	565	5,3	407	3,5
A 50	Laringe	585	2,6	529	4,8	56	0,5	268	2,5	317	2,7
A 51	Bronho-pulmonar	4 937	22,1	4 043	36,7	894	7,9	2 639	24,8	2 298	19,6
A 52	Os	569	2,6	351	3,2	258	1,9	270	2,5	299	2,6
A 53	Piele	409	1,8	212	1,9	197	1,7	178	1,7	231	2,0
A 54	Sin	1 779	8,0	-	-	1 779	15,7	1 037	9,7	742	6,3
A 55	Col uterin	1 386	6,2	Inaplicabil	Inaplicabil	1 386	12,2	573	5,4	813	7,0
A 56	Alte părți uter	830	3,7	Inaplicabil	Inaplicabil	830	7,4	376	3,5	454	3,8
	Uter (toate părțile)	2 216	9,9	Inaplicabil	Inaplicabil	2 216	19,6	949	8,9	1 267	10,8
A 57	Prostată	1 009	4,5	1 009	9,2	Inaplicabil	Inaplicabil	488	4,6	521	4,4
A 58	Alte localizări și nespecificate	7 431	33,2	3 959	35,8	3 472	30,8	4 001	37,6	3 430	29,3
A 59	Leucemii	934	4,2	532	4,8	402	3,6	444	4,2	490	4,2
A 60	Alte limfatice și hematopoietice	820	3,6	513	4,6	307	2,7	412	3,8	408	3,5

CID = Clasificarea internațională a bolilor.

CANCER (TOATE LOCALIZĂRILE) MORTALITATEA SPECIFICĂ VÂRSTEI / 100.000 1974

(SURSA SEGI - modificat)

BĂRBAȚI



FEMEI

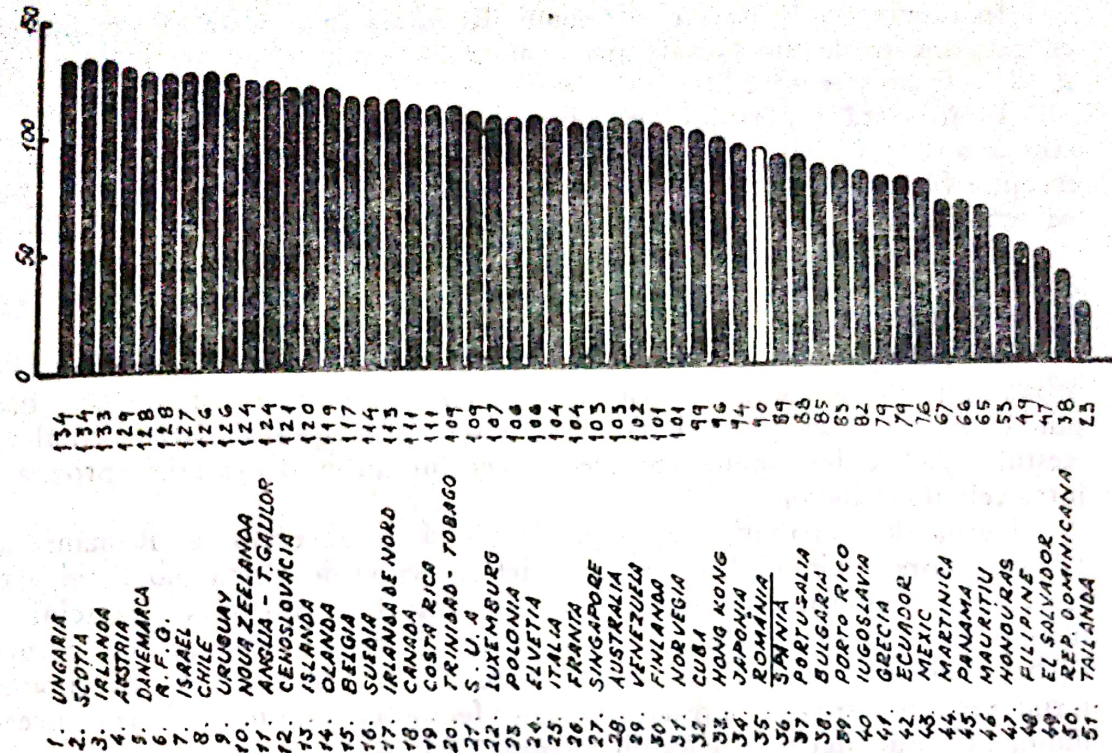


Fig. 2.2. — Cancer (toate localizările) mortalitatea specifică vârstei / 100 000, 1974, în 51 țări.

În raport cu 51 de țări ale lumii, România face parte din grupul țărilor cu rată medie de mortalitate prin cancer, situându-se pe locul 36 la bărbați și 37 la femei (figura 2.2).

În privința raportului masculin-feminin al mortalității prin cancer, luat atît pe ansamblu, cît și pe localizări, se constată o supramortalitate masculină, excepție făcînd următoarele localizări, unde și aceste diferențe nu sînt deosebit de semnificative, ratele fiind practic identice: intestin, colon, rect și piele.

Distribuția pe medii (urban/rural) a mortalității prin cancer, per total, este ușor crescută în favoarea celui urban ($132,20/0000$, sexe întrunite) față de rural ($121,00/0000$).

Așa cum rezultă din tabelul anterior, valori crescute ale indicatorilor în urban sînt consemnate pentru următoarele localizări: colon, rect, bronhopulmonar, sîn, uter (toate părțile) îndeosebi prin aportul dat de colul uterin. Restul localizărilor anatomice ale cancerului au o distribuție aproape egală între cele două medii.

Curba de distribuție pe grupe de vîrstă a cancerului în România anului 1978 are aspect bimodal, cu primul vîrf în grupa de vîrstă sub 5 ani, datorită leucemiilor, tumorilor sistemului nervos central și rinichiului, crescînd exponențial pînă la grupa de vîrstă de peste 75 de ani. Remarcăm încrucișarea curbelor de distribuție a cancerelor între 25—35 de ani, cînd predomină valorile sexului feminin, supramortalitate feminină determinată de cancerul sînului, cancerul uterin și leucemii (figura 2.3.).

2.2.1.

Codul A-45:

Cancerul cavității bucale și faringelui

Potrivit datelor publicate de Segi pentru această localizare, România se situează pe locul 20 pentru bărbați ($3,30/0000$) respectiv 22 ($0,90/0000$) pentru femei, printre 43 de țări ale lumii în anul 1977.

Raportul masculin-feminin este de 3/1, iar cel urban/rural are o distribuție egală.

Nu se poate trece cu vederea raportul dintre incidență și mortalitate pentru acest grup neomogen din punct de vedere carcinogenetic, în sensul existenței unui raport supraunitar cu valoarea în jurul lui 2,3/1 (în SUA acest raport este de aproximativ 2,9/1) explicabil prin proporția mare a cancerului buzelor, care variază între 2/3 pînă la 3/4 din totalul pentru sexul masculin și de circa 1/2 pentru cel feminin.

Nazo-faringele, care pune în discuție o altă categorie de agenți cancerigeni (ipoteza virală a etiologiei), reprezintă între 7—11% pentru bărbați și 16% pentru femei din totalul grupului.

2.2.2.

Codul A-46:

Cancerul esofagului

Această localizare anatomică cu un indice minor al mortalității pentru țara noastră, de $1,90/0000$ bărbați și de $0,60/0000$ femei nu prezintă probleme

Cancer toate localizările - Mortalitatea
specifică vârstei pe sexe (%0000) România 1978

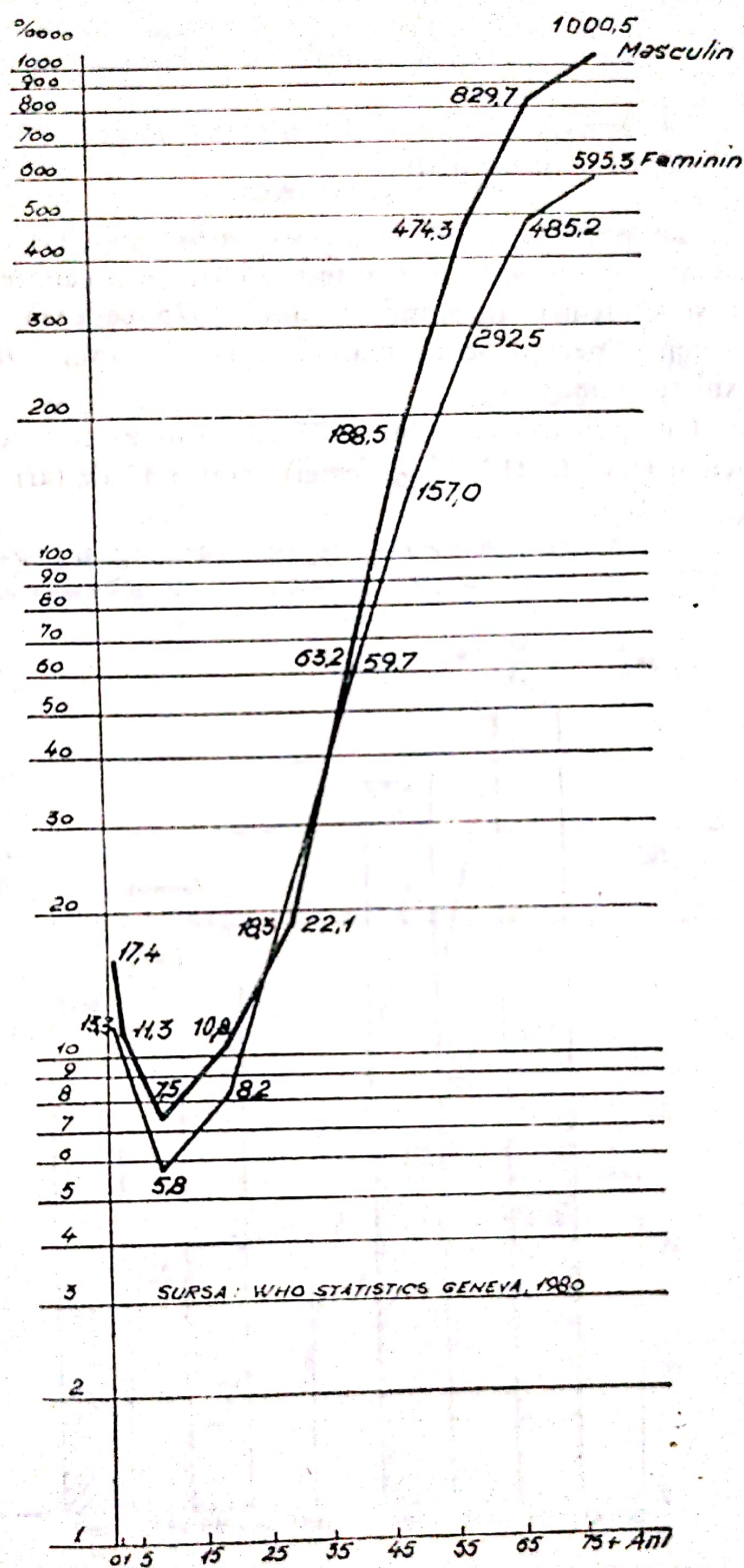


Fig. 2.3. — Cancer (toate localizările) mortalitatea specifică vârstei pe sexe (100 000) România 1978.

deosebite sub aspect epidemiologic și profilactic, ci mai degrabă terapeutic, îndeosebi pentru segmentul superior și mijlociu. La 95% a cazurilor, atât la bărbați, cât și la femei boala survine la vârsta de peste 45 de ani. Distribuția este egală între sat și oraș.

2.2.3.

Codul A-47:

Cancerul stomacului

Timp de peste 40 de ani — între anii 1931—1973 — cancerul gastric a ocupat primul loc în cadrul mortalității prin cancer în România atât la bărbați, cât și la femei. Începînd cu anul 1975 cedează locul I cancerului bronho-pulmonar pentru sexul masculin, iar în anul 1981 cancerul sînului pentru sexul feminin.

Cu indicatorii anului 1977 cancerul gastric ocupă locul 7 (27,6‰ bărbați) și locul 11 (12,9‰ femei) printre 43 de țări ale lumii.

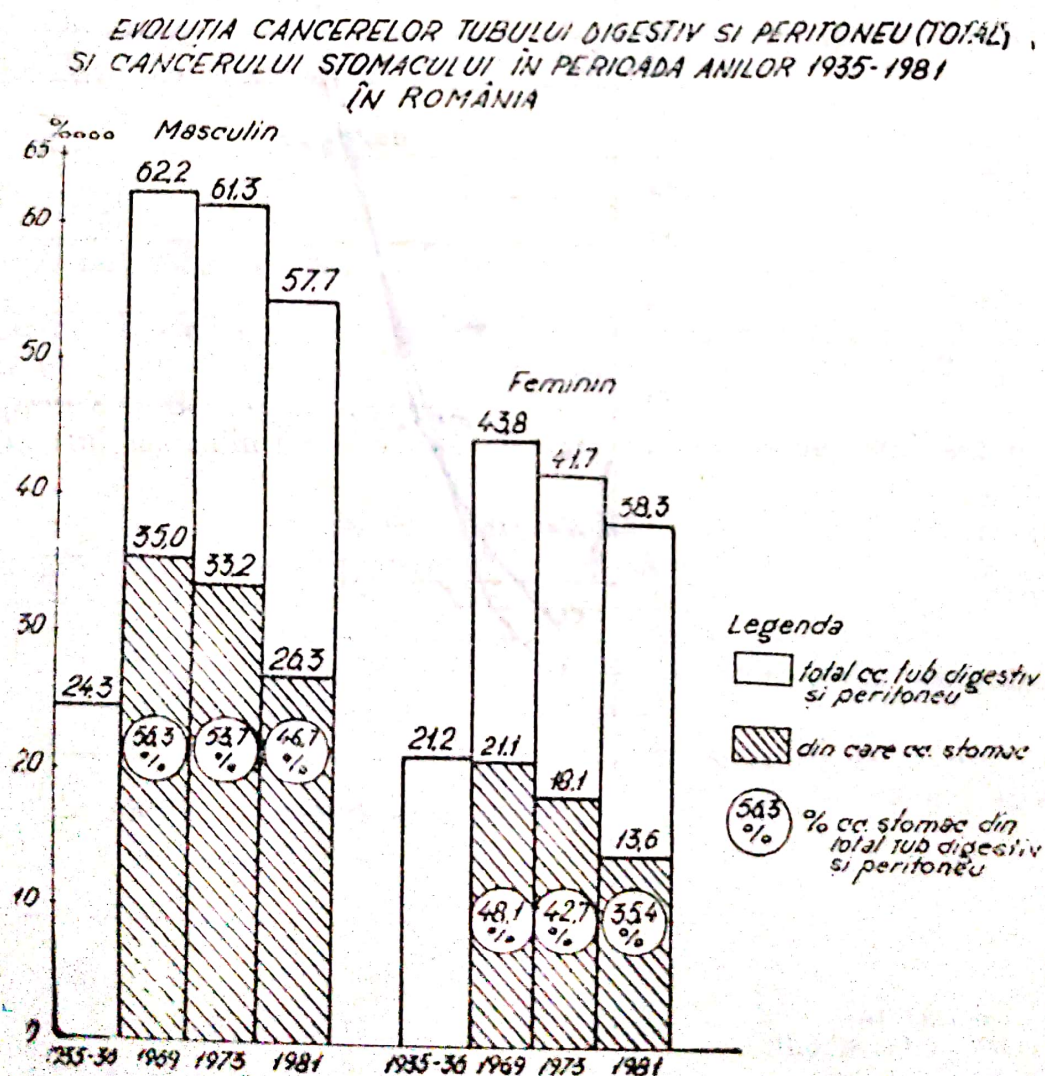


Fig. 2.4. — Evoluția cancerului tubului digestiv și peritoneu (total) și a cancerului stomacului în perioada anilor 1935—1981 în România.

Patologia geografică a cancerului gastric în anul 1980 — sexe întrunite — indică valori maxime de peste 30‰ locuitori în județele Arad, Alba, Bihor, Harghita, Sălaj și Suceava.

Dacă o lungă perioadă de timp cancerul gastric a avut ponderea sa importantă în cadrul mortalității prin cancer în țara noastră la ambele sexe, ca și în totalul cancerului tubului digestiv și anexe, ceea ce atrage atenția în al doilea rând este scăderea sa progresivă în ultimii 20 de ani pentru ambele sexe (fig. 2.4).

Compararea cartogramelor anilor 1971 și 1980 reflectă această tendință de scădere chiar în decursul a numai 10 ani prin aceea că în anul 1980 există numai 6 județe cu mortalitate crescută peste 30‰ locuitori în raport cu anul 1971, când existau 10 județe în cadrul aceleiași mortalități ridicate.

Cancerul gastric este mai frecvent în mediul rural (23,3‰ sexe întrunite) în raport cu cel urban (16,8‰), raportul urban/rural fiind de 1/17 pentru sexul masculin și de 1/1,5 pentru cel feminin.

Frecvența bolii crește proporțional cu vârsta, persoanele din grupele de vârstă înaintată fiind cele mai afectate (fig. 2.5).

Curba mortalității marchează o creștere exponențială după 40 de ani. Peste 95% din bărbați, ca și din femei au decedat după vârsta de 45 de ani.

Raportul masculin/feminin a fost în anul 1981 de 1,7/1, ceea ce practic vorbind arată că la bărbați există un risc aproape dublu de îmbolnăvire față de femei.

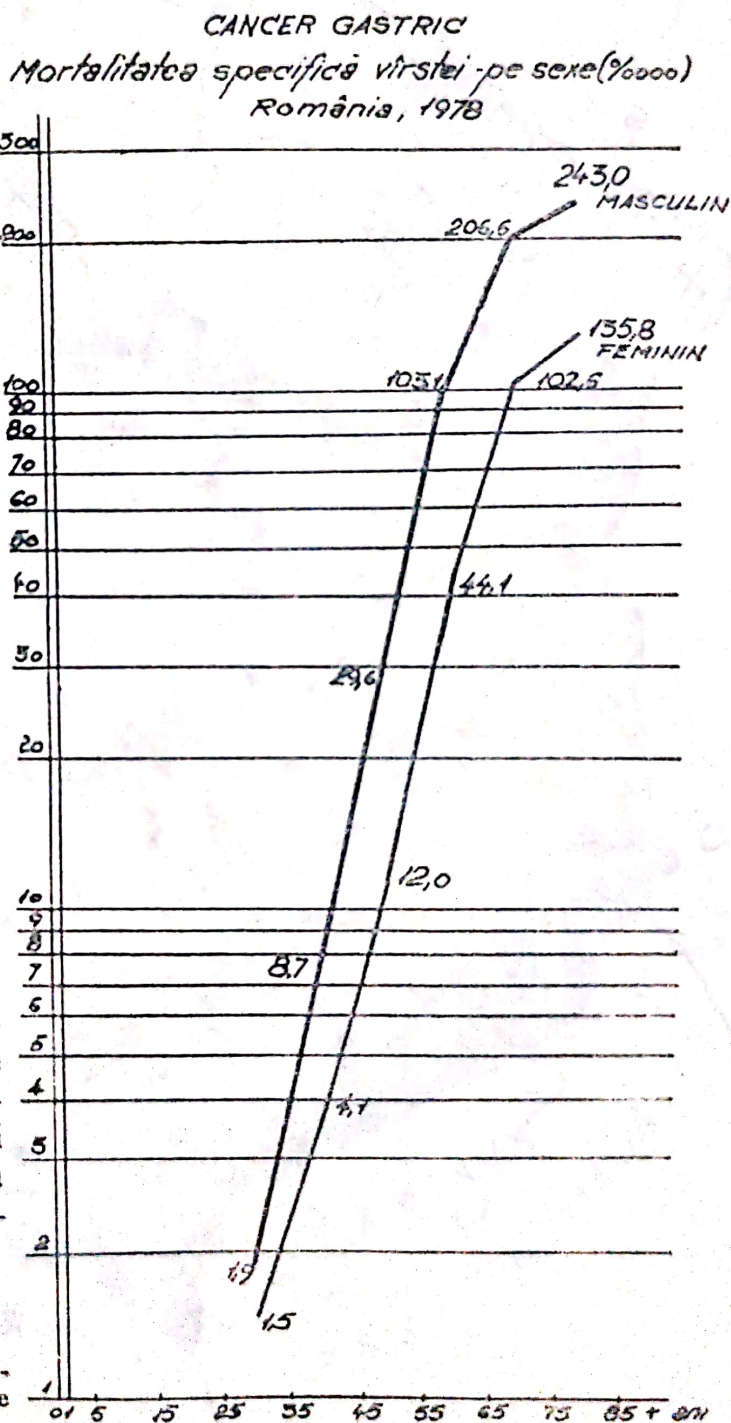
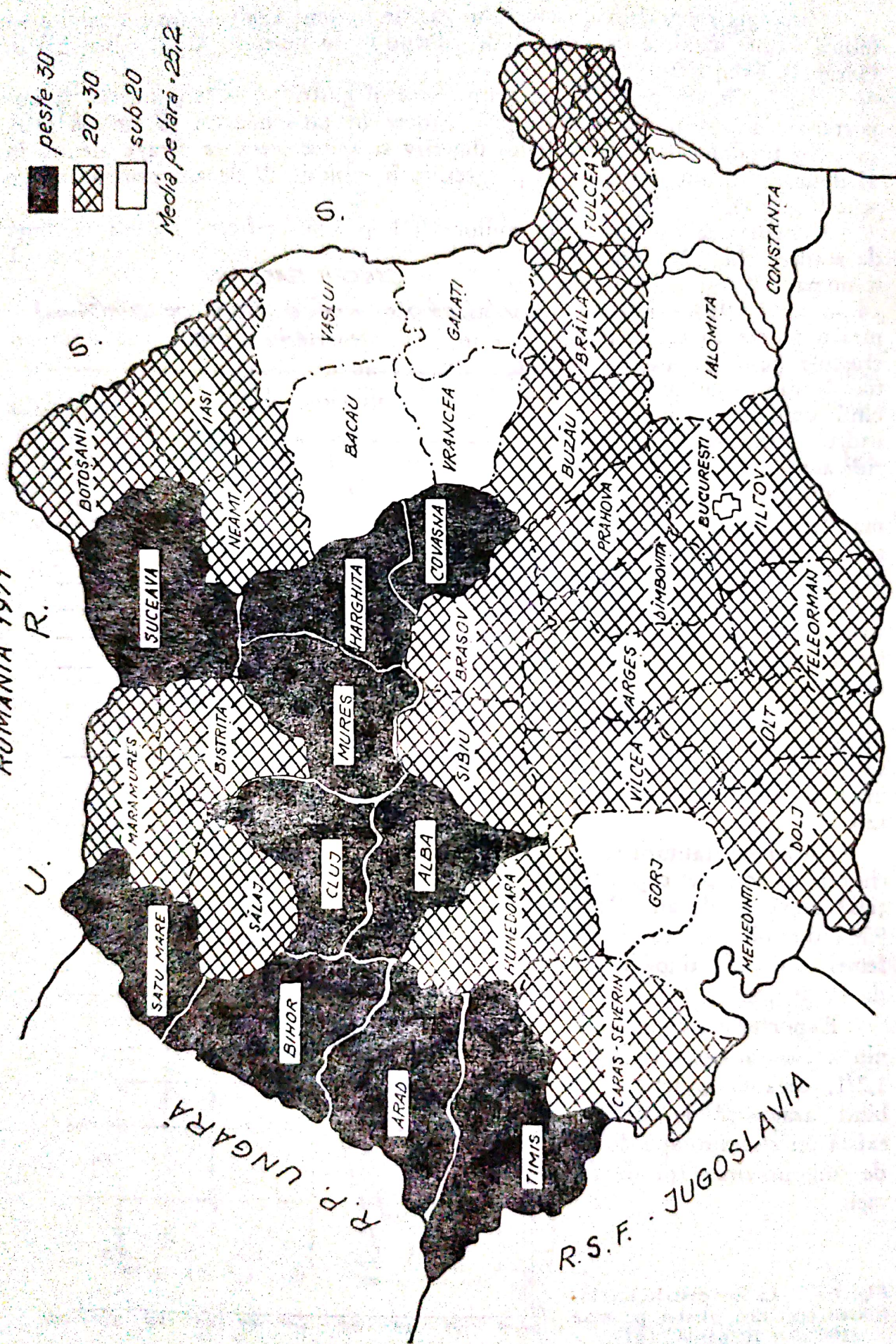


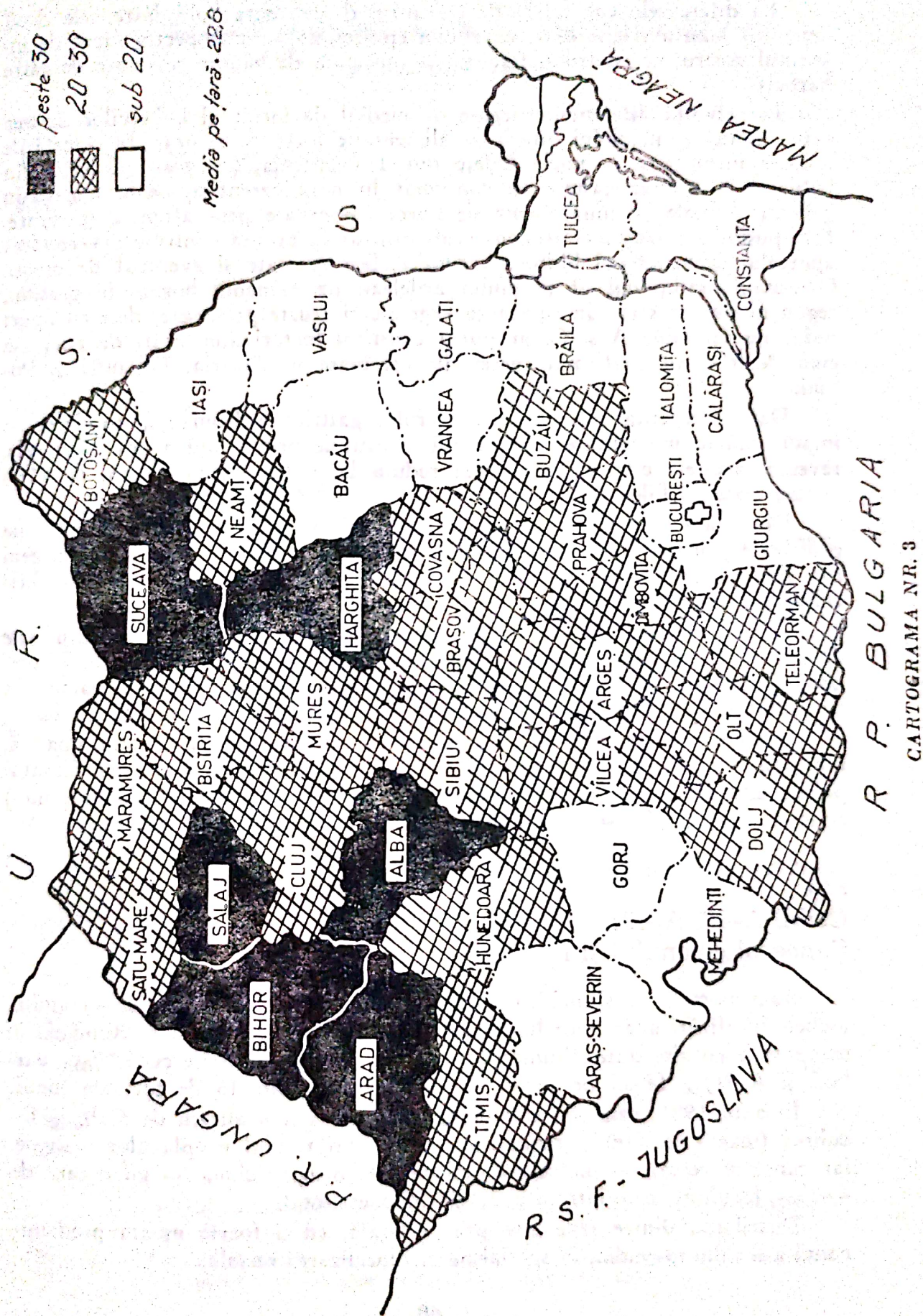
Fig. 2.5. — Cancer gastric, mortalitatea specifică vârstei pe sexe (100 000) România, 1978.

CANCERUL GASTRIC. MORTALITATE - SEXE ÎNTRUNITATE - ‰/10000
ROMÂNIA 1971



R. P. BULGARIA
CARTOGRAMA NR. 2

CANCERUL GASTRIC. MORTALITATE - SEXE ÎNTRUNITE - ‰10000
ROMÂNIA 1980



La diferențele constatate de noi privind frecvența bolii între cele două sexe, așa cum a reieșit dintr-un studiu epidemiologic retrospectiv făcut de institutul nostru, ar contribui fumatul și consumul de băuturi alcoolice de către bărbați.

În privința diferențelor legate de mediul de locuit al bolnavilor acestea s-ar datora tot mediului diferit de alimentație între sat și oraș. În cercetările noastre întreprinse în unele județe din Transilvania, am găsit că 85% din bolnavii cu cancer gastric au consumat în mod curent alimente bogate în grăsimi animale (slănină, carne de porc) conservate prin afumare și sărare. Este posibil ca acest mod de conservare utilizat la țară să contribuie la creșterea aportului alimentar al hidrocarburilor ciclice aromate și eventual de nitriți. Consumul tradițional al țărânului ardelean de alimente bogate în grăsimi, regim alimentar sărac în substanțe vegetale și fructe proaspete, deci cu aport redus de vitamine A și C, ar putea constitui factori alimentari de risc, așa cum de altfel au confirmat cercetările efectuate în Austria, Finlanda și Polonia.

Dacă frecvența crescută a cancerului gastric în România, ponderea sa importantă în mortalitatea canceroasă, constituie prima față a gravității sale, reversul acesteia este supraviețuirea redusă la 5 ani, găsită de noi de 21% pentru toate stadiile bolii.

Din toate cele afirmate mai înainte reiese necesitatea unor măsuri de profilaxie primară, de înlăturarea sau reducerea factorilor de risc cancerigeni din alimentație, dar și secundată de diagnostic precoce al bolii cu toate dificultățile și limitele existente.

Trebuie să admitem însă că în cancerul gastric nu numai tratamentul este dificil, în primul rând datorită diagnosticului tardiv, dar și că profilaxia primară întâmpină de asemenea dificultăți prin faptul că obiceiurile oamenilor de a mânca, de a bea sau de a fuma nu pot fi schimbate de la o zi la alta.

Într-un interviu acordat cu ocazia unei vizite efectuată în țara noastră, Halfdan Mahler, directorul general al OMS afirmă că: „în România climatul politic este favorabil, iar dumneavoastră (forurile de sănătate publică, n.n.) acționați energic într-o abordare profilactică a problemelor de sănătate.”

2.2.4.

Codul A-48, A-49:

Cancerul colonului și rectului

Rata mortalității și incidenței (morbidității) cancerului colonului și rectului, ambele localizări anatomice luate la un loc, este foarte scăzută în România în comparație cu alte state, situându-se din acest punct de vedere cu 6,70/0000 bărbați și 6,10/0000 femei pe locul 37, respectiv 38, din 46 de țări ale lumii.

În anul 1981, cancerul colonului, cu o rată a mortalității de 5,30/0000 locuitori (sexe întrunite) a reprezentat 4,20% din totalul neoplaziilor maligne, iar cancerul rectal — inclusiv joncțiunea recto-sigmoidiană — cu o rată de 4,40/0000 locuitori, sexe întrunite, 3,40% din acest total.

Distribuția dintre sexe este practic egală, cu o foarte ușoară predominanță a sexului masculin, în special pentru localizarea rectală.

CANCERUL COLONULUI. MORTALITATE SPECIFICĂ VÂRSTEI - ‰‰‰‰ ROMÂNIA 1978

(SURSA - WHO STATISTICS 1980 - GENEVA)

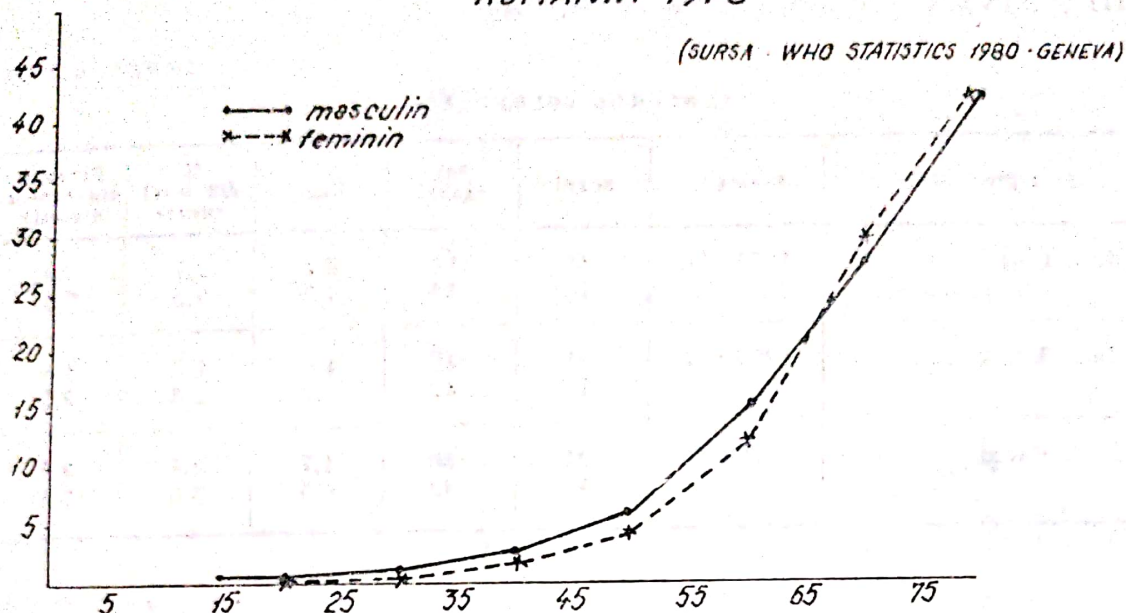


Fig. 2.6. — Cancerul colonului, mortalitatea specifică vârstei (100 000) pe sexe, România 1978.

Frecvența bolii crește o dată cu vârsta, fenomen pentru ambele localizări anatomice și pentru ambele sexe, grupele vârstnice peste 40 de ani fiind cele mai afectate, totalizând peste 90% din toate cazurile (fig. 2.6 și 2.7).

Atît cancerul colonului, cît și cel al rectului sînt mai frecvente în mediul urban (6,5‰‰‰‰ colon; 5,3‰‰‰‰ rect) în raport cu mediul rural (4,3‰‰‰‰ colon și 3,5‰‰‰‰ rect) (sexe întrunite).

CANCERUL RECTAL - INCLUSIV JONCTIUNEA RECTOSIGMOIDIANĂ - MORTALITATE SPECIFICĂ VÂRSTEI - ‰‰‰‰ ROMÂNIA, 1978

(SURSA - WHO STATISTICS, 1980 - GENEVA)

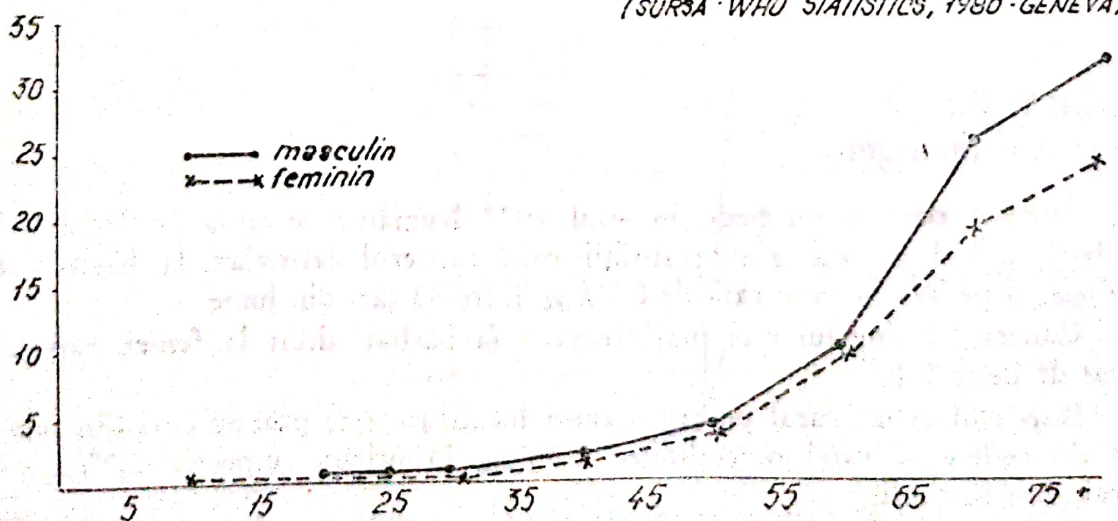


Fig. 2.7. — Cancerul rectal - inclusiv jonctiunea recto-sigmoidiană - mortalitatea specifică vârstei (100 000) pe sexe România, 1978.

Incidența acestor localizări în România este cunoscută numai în județul Cluj, Timiș și regiunea Banat, din care semnalăm următoarele date (tabelele 2.III și 2.IV).

TABELUL 2.III

CANCERUL COLONULUI

Aria geografică	Perioada	Sexul	Nr. cazuri	% ₀₀₀₀	% din total cancer	Procent din cancer digestiv
1. Jud. Cluj	1974—78	M	111	6,2	2,7	5,9
		F	89	4,9	2,3	7,5
2. Jud. Timiș	1970—72	M	37	4,0	1,7	4,5
		F	42	6,2	2,8	9,7
3. Reg. Banat	1967	M	30	4,7	2,1	5,6
		F	43	6,5	3,0	12,5

TABELUL 2.IV

CANCERUL RECTULUI

Aria geografică	Perioada	Sexul	Nr. cazuri	% ₀₀₀₀	% din total cancer	Procent din cancer digestiv
1. Jud. Cluj	1974—78	M	140	7,9	3,4	7,4
		F	135	7,5	3,5	11,4
2. Jud. Timiș	1970—72	M	98	10,5	4,5	12,0
		F	114	11,5	5,2	17,8
3. Reg. Banat	1967	M	34	5,4	2,4	6,3
		F	41	6,2	2,8	11,9

2.2.5.

Codul A-50:

Cancerul laringelui

Potrivit datelor lui Segi, în anul 1977 România se situa pe locul 9 la bărbați, avînd o rată a mortalității prin cancerul laringian la bărbați de 4,90/0000 și pe locul 7 cu o rată de 0,50/0000 între 43 țări din lume.

Cancerul laringelui este mai frecvent la bărbați decît la femei, raportul fiind de peste 9/1.

Raportul urban/rural pentru această localizare este practic egal din punctul de vedere al ratei mortalității: 2,50/0000 în urban, respectiv 2,70/0000 în rural, sexe întrunite.

Incidența cancerului laringelui este și ea variabilă în funcție de sex și aria geografică.

*Cancer pulmonar - Mortalitatea specifică
virstei pe sexe(‰‰‰) România 1978*

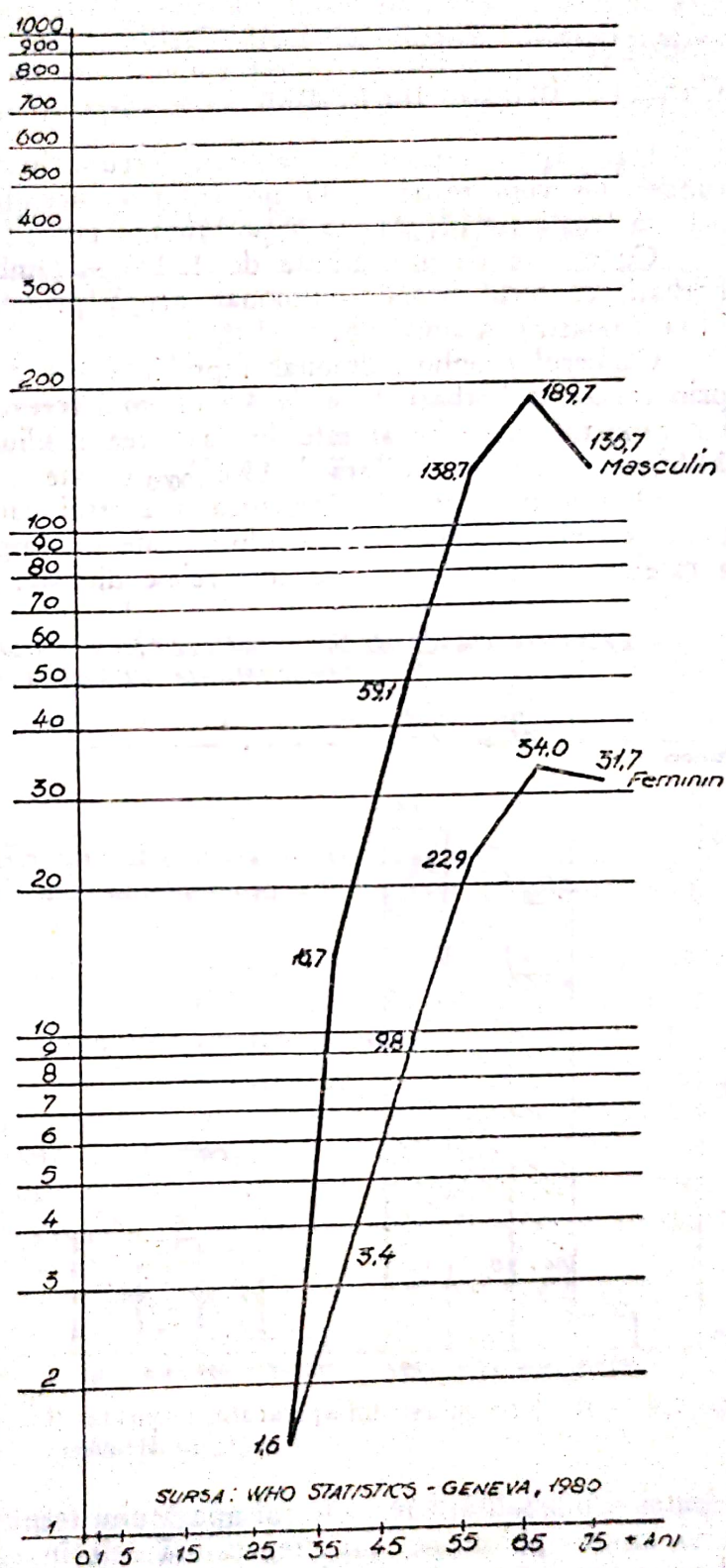


Fig. 2.8. — Cancer pulmonar, mortalitatea specifică virstei (100 000) pe sexe, România — 1978.

Consemnăm pentru sexul masculin un indicator de $7,6^0/0000$ în județul Cluj (perioada 1974—1978), respectiv $10,9^0/0000$ în județul Timiș (perioada 1970—1972), iar pentru cel feminin de 0,5, respectiv $0,7^0/0000$.

2.2.6.

Codul A-51:

Cancerul bronho-pulmonar

Data fiind expunerea detaliată făcută în cadrul capitolului fumat și cancer, ne vom restrînge la prezentarea succintă a datelor actuale privind această localizare neoplazică importantă.

Cu o rată de mortalitate de $22,1^0/0000$ (ambele sexe) și de $36,7^0/0000$ la bărbați, cancerul bronho-pulmonar ocupă primul loc în ierarhia cancerelor în țara noastră în anul 1981.

Cancerul bronho-pulmonar reprezintă $1/4$ din totalul cazurilor de deces prin cancer la bărbați. Este de 4,5 ori mai frecvent la bărbați decît la femei, iar raportul urban/rural este în favoarea mediului orășenesc, cu o rată de $24,8^0/0000$ sexe întrunite față de $19,6^0/0000$ la sate.

O altă trăsătură caracteristică a acestui cancer este a creșterii proporțional cu vîrsta (fig. 2.8) și evoluției sale în timp, în sensul creșterii continue a ratelor de mortalitate, așa cum reiese din fig. 2.9. În general creșterea in-

EVOLUȚIA CANCERELOR APARATULUI RESPIRATOR (total) și PULMONAR
ÎN ROMÂNIA, PERIOADA 1935-1981

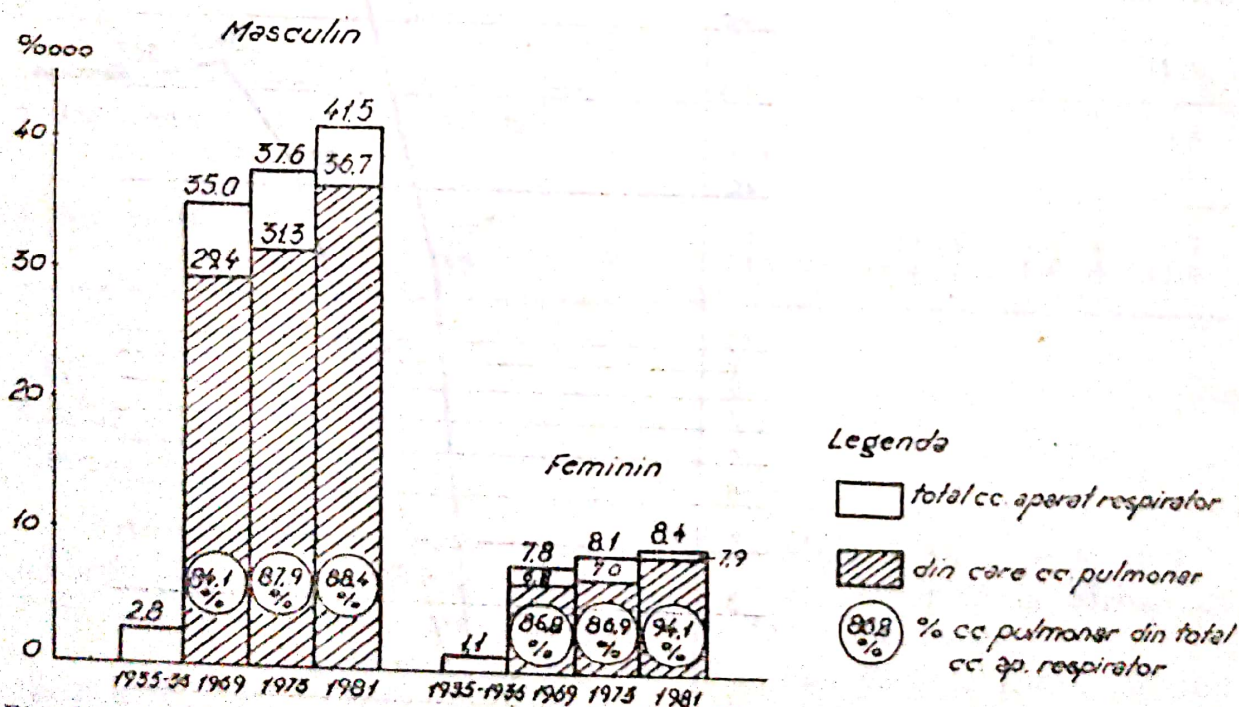


Fig. 2.9. — Evoluția cancerului aparatului respirator (total) și pulmonar (în perioada 1935—1981) în România.

cidenței și mortalității în cancerul aparatului respirator se face pe seama cancerului bronho-pulmonar, care reprezintă atît în cazul incidenței, cît și în cel al mortalității 88% din totalul cancerelor aparatului respirator.

2.2.7.

Codul A-52:

Cancerul oaselor

Dacă ar trebui dat un titlu literar acestui capitol de epidemiologie acesta ar putea fi „un cancer uitat sau neglijat”. Motivăm această afirmație prin faptul că în ultimii 10 ani, așa cum vom arăta în tabelul 2.V., România a ocupat locul I, II, sau III în competiție cu Grecia, Portugalia și uneori cu Italia.

TABELUL 2.V

**CANCERUL OASELOR — MORTALITATE: ‰/1000 PE SEXE
LOCUL OCUPAT DE ROMÂNIA PRINTRE ȚĂRILE LUMII: 1970—1981**

Anul	Masculin			Feminin			Total țări	Sursa
	cifre absolute	‰/1000	Locul	cifre absolute	‰/1000	Locul		
1970	306	2,8	II	180	1,5	I	43	SEGI M.
1971	267	2,4	III	220	1,8	III	43	SEGI M.
1972	n	n	II	n	n	III	43	SEGI M.
1973	291	2,8	III	225	2,1	II	43	SEGI M. și Com. Spec. Cancer Min. Sănătății
1974	313	2,9	I	196	1,5	II	51	SEGI M.
1975	317	3,0	I	226	2,1	I	31	WHO Statistics 1979
1976	317	2,8	III	213	1,6	III	40	SEGI M.
1977	306	2,6	II	224	1,7	II	43	SEGI M.
1978	309	2,9	II	221	2,1	II	31	WHO Statistics 1980
1981	351	3,2	n	218	1,9	n	n	Com. Spec. Canc. Min. Săn.

NOTĂ: „n” = date nedisponibile

Cu o pondere de 2,2‰ din totalul cancerelor, remarcăm mortalitatea mai crescută la bărbați (raportul masculin/feminin=3/2) și o distribuție egală între mediul urban și rural.

Distribuția pe grupe de vîrstă a cancerului oaselor este de tip bimodal, cu un prim vîrf între 15—25 ani și al doilea după 55—65 ani, distribuție asemănătoare celei descrisă de Fraumeni pentru populația albă din SUA.

Faptul că în codul cancerelor oaselor intră de fapt 3 entități diferite, osteosarcomul, boala Paget a oaselor și condrosarcomul, impune studii epidemiologice-clinice care să scoată în evidență particularitățile specifice, factorii de risc care determină așezarea țării noastre în fruntea mortalității prin cancerul oaselor printre țările lumii, dar și pentru realizarea unor modalități de depistare și diagnostic precoce.

2.2.8.

Cod A-53:

Cancerul pielii (melanic și nemelanic)

Mortalitatea acestei localizări neoplazice este egal distribuită între cele două sexe (masculin = 1,9‰/1000; feminin = 1,7‰/1000). Are o frecvență ușor crescută în mediul rural de 2,0‰/1000 (sexe întrunite) față de 1,7‰/1000 în urban.

Existența Registrului Național de Cancer în România constituie o premiză a unei mai bune cunoașteri a aspectelor epidemiologice a localizării melanice și nemelanice a cancerului pielii. Subliniem aceasta, deoarece înaintea obligativității declarării cazurilor noi de cancer, cancerule cutanate, în special

CANCERUL OASELOR - ROMÂNIA - 1978
MORTALITATEA SPECIFICĂ VIRSTEI, PE SEXE (‰1000)

SURSA WHO STATISTICS, GENEVA, 1980

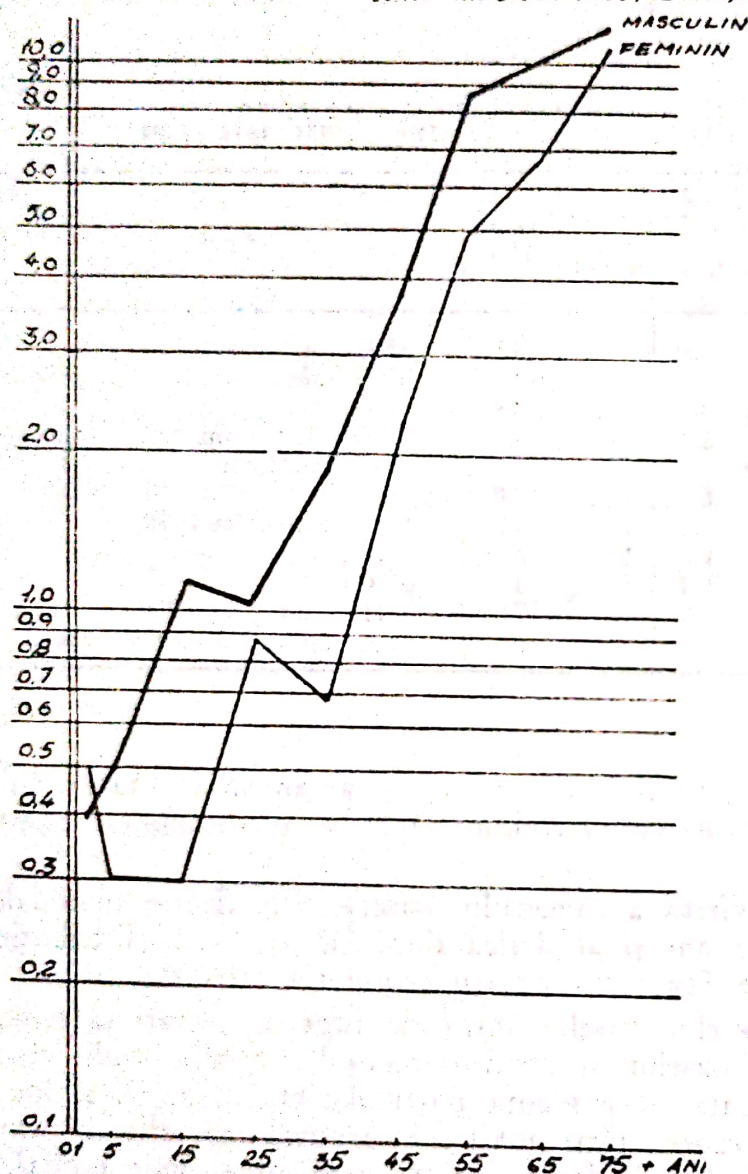


Fig. 2.10. — Cancerul oaselor în România; mortalitatea specifică virstei (100 000) pe sexe, 1978.

cele nemelanice, nu au reținut suficient atenția datorită gradului lor redus de letalitate. În consecință, de cele mai multe ori nu se proceda la înregistrarea lor, după cum foarte frecvent nu se efectuează biopsii. Într-o comunicare am aratat unele particularități ale cancerelor cutanate melanice și nemelanice, la un lot de 1 849 de tumori cutanate înregistrate pe o perioadă de 10 ani (1965—1974) în institutul nostru.

Sub aspect profesional, peste 25% din bolnavii cu cancer cutanat nemelanice erau agricultori, în schimb melanomul malign l-am întâlnit numai la 10% la agricultori.

În privința distribuției topografice a cancerelor melanice și nemelanice am constatat că părțile descoperite ale tegumentului sînt mai des afectate de cancerele nemelanice (spino și bazo-celulare), spre deosebire de melanomul malign, care în peste 2/3 din cazuri era localizat pe tegumentul acoperit de veșminte.

2.2.9.

Codul A-54: Cancerul sînului

Cancerul sînului reprezintă în prezent (1981) prima localizare neoplazică la femei cu o rată a mortalității de 15,6⁰/0000, depășind atît cancerul gastric (13,6⁰/0000), cît și pe cel al colului uterin (12,2⁰/0000). Fenomenul acesta trebuie subliniat în mod deosebit din punctul de vedere al epidemiologiei cancerului, reflectînd „occidentalizarea” structurii cancerului sexului feminin în România, cancerul colului uterin fiind depășit după ce această localizare a dominat peste 35 de ani scena oncologiei femeii, iar cancerul gastric după 50 de ani.

Se poate trage concluzia potrivit căreia modificările în structura pe localizări neoplazice într-o arie geografică dată au un caracter lent, de durată, iar apariția unor modificări oscilatorii, bruște, semnalate într-o perioadă scurtă de timp înseamnă de regulă erori de înregistrare sau erori de interpretare prin fenomenul de supra- sau subdiagnostic al neoplaziilor.

Cu rata sa de mortalitate prin cancer al sînului, România face parte din grupa de țări cu mortalitate medie, ocupînd în anul 1977 locul 30 din 43 de țări ale lumii.

Pe lîngă această modificare a poziției în „top”-ul mortalității prin cancer la femeie, semnalăm o altă caracteristică evidentă a acestei localizări și anume distribuția teritorială inegală pe teritoriul țării noastre. Comparînd cartogramele cu mortalitatea prin cancerul sînului la femeie pentru anul 1971 cu cea a anului 1978, se observă clar tendința de creștere a numărului de județe cu mortalitate ridicată, sugerînd o „maree” neagră ce se extinde spre restul județelor țării din direcția nord-vest și vest spre est și sud-est. Factorii de risc care au acționat inițial în Banat și Transilvania: structura de tip îmbătrînit a populației, comportamentul social-economic (starea matrimonială, fertilitatea, alăptarea, alimentația etc.), tind să se uniformizeze pe cuprinsul întregii țări, aducînd treptat modificările corespunzătoare de creștere a incidenței și mortalității prin cancerul sînului.

Curba de distribuție a cancerului sînului are un caracter bimodal, explicat de altfel în capitolul corespunzător al epidemiologiei generale a cancerului.

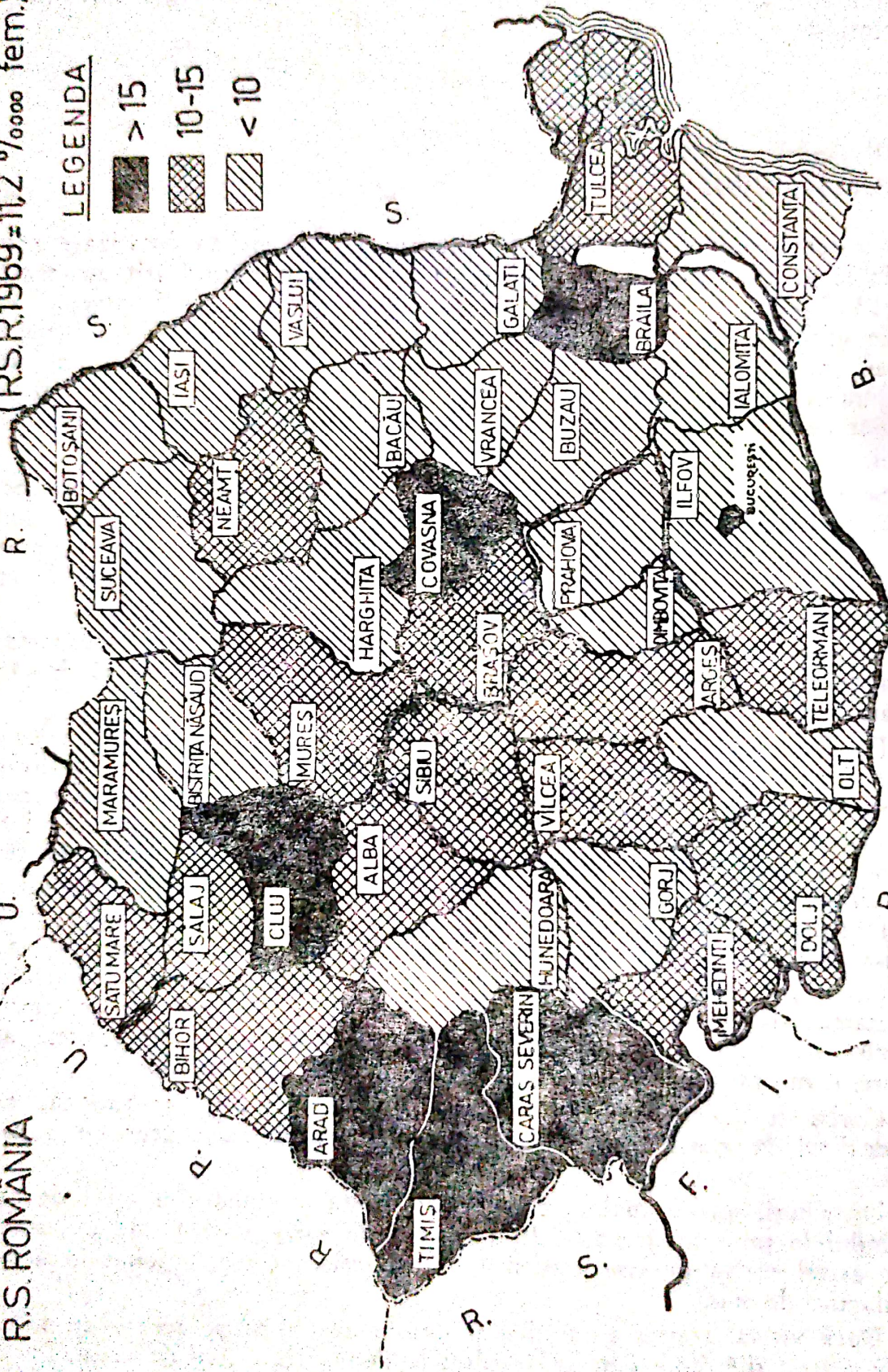
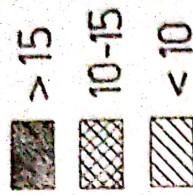
Distribuția procentuală pe grupe de vîrstă a numărului total de cancer al sînului în țara noastră este de mai mult de 88% peste 45 de ani, stabilindu-se astfel vîrsta de risc crescut asupra căreia trebuie acționat în acțiunile profilactice de masă.

Dacă vîrsta de risc a cancerului sînului este aproape aceeași cu a colului uterin, există diferențe nete în rezultatele depistării active de masă, în sensul că acțiunile de depistare în masă pentru cancerul sînului nu au dat pînă în

Mortalitatea prin neoplaziile maligne ale sînului în 1969

R.S. ROMÂNIA (R.S.R. 1969 = 11,2 ‰/1000 fem.)

LEGENDA

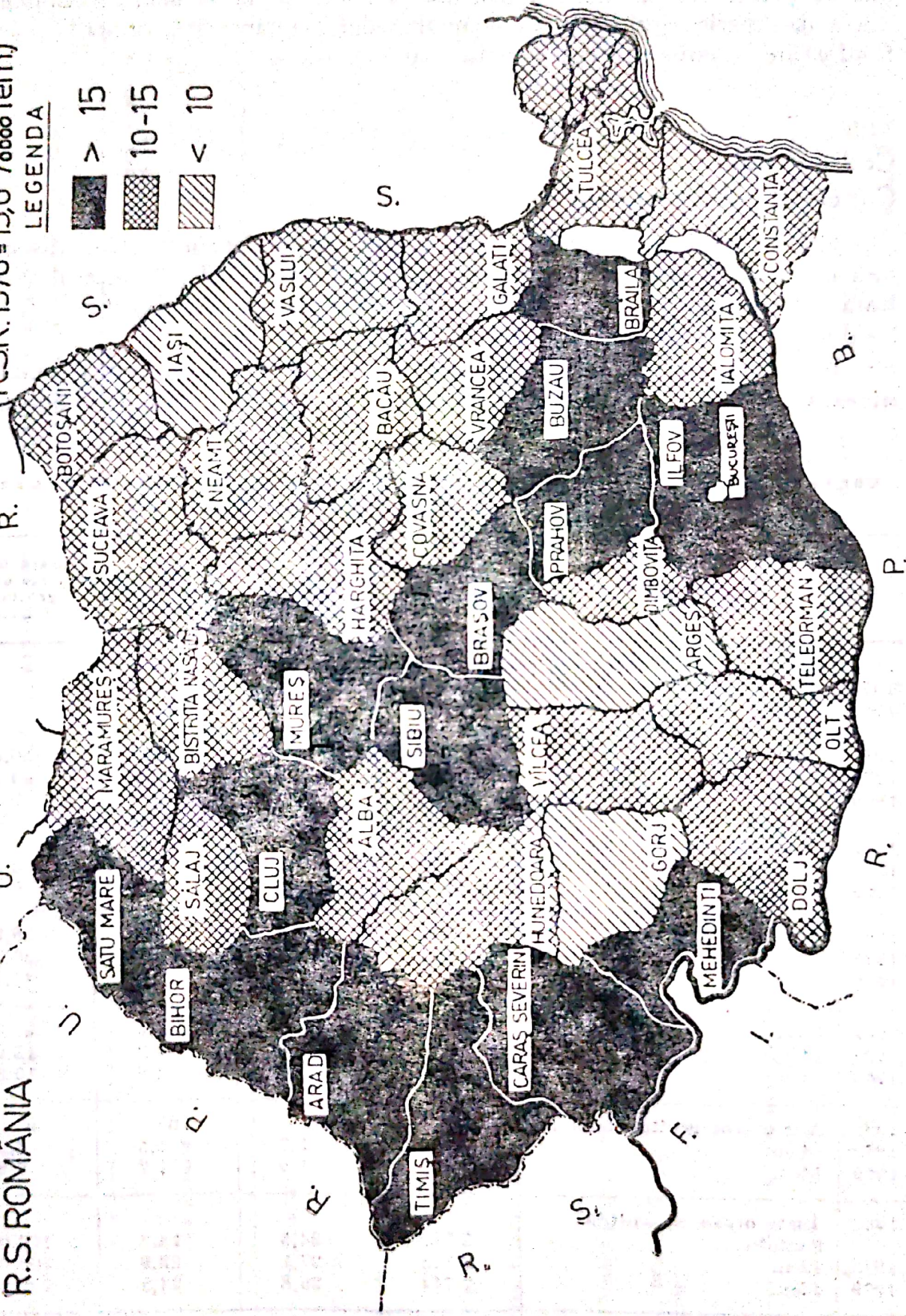


Mortalitatea prin cancerul sînului, la femeie 1978

(RSR. 1978 = 15,6‰_{0000 fem.})

R.S. ROMÂNIA

LEGENDA



CARTOGRAMA NR. 5

prezent valori mai bune decât cele obținute prin depistarea pasivă, ca urmare a prezentării spontane a femeilor la medic în urma unei autoexaminări sau a descoperirii întâmplătoare a unui nodul mamar, 55% în stadiile I—II fiind găsite în ambele situații descrise.

2.2.10.

Codul A-55:

Cancerul colului uterin

Cancerul colului uterin are și în prezent o pondere importantă în structura mortalității prin cancer la femeie, ocupînd locul 3 după cancerul gastric. Rata mortalității acestei localizări în România este de 12,2‰ femeii (1981), fiind mai frecventă în mediul rural.

Din 43 de țări ale lumii potrivit ultimei publicații a lui Segi, România se situează pe locul 5, după Chile, Costarica, Venezuela și Polonia. Importanța

TABELUL 2.VI

MORTALITATEA PRIN CANCERUL ORGANELOR GENITALE FEMININE ÎN ROMÂNIA
SITUAȚIA COMPARATIVĂ A ANILOR 1981, 1973 ȘI 1969

Anul	Localizarea	Cifre absolute	‰ femei	% din total cancere femeie	% din total cancere organe genitale femeie
1981	Toate localizate la femeie	12 393	109,5	100,0	—
1973	Toate localizate la femeie	11 985	110,0	100,0	—
1969	Toate localizate la femeie	11 062	108,6	100,0	—
1981	Col uterin	1 386	12,4	11,2	50,0
1973	Idem	1 268	12,0	10,6	44,3
1969	Idem	1 073	10,5	9,7	39,1
1981	Corioepiteliom *	—	—	—	—
1973	Idem	8	0,1	0,1	0,3
1969	Idem	9	0,1	0,1	0,3
1981	Alte părți uter	830	7,2	6,7	29,9
1973	Idem	1 040	9,8	8,9	36,3
1969	Idem	1 187	11,6	10,7	43,2
1981	Ovar	555	4,9	4,5	20,0
1973	Idem	370	3,5	3,2	12,9
1969	Idem	283	2,8	2,6	10,3
1981	Alte organe genitale feminine	n	n	n	n
1973	Idem	179	1,7	1,5	6,2
1969	Idem	192	1,9	1,7	6,9
1981	Toate organele genitale feminine	2 771	24,5	18,3	100,0
1973	Idem	2 865	27,1	23,9	100,0
1969	Idem	2 744	26,8	24,8	100,0

NOTĂ: a) — în anul 1981 corioepiteliomul este inclus în codul „alte părți uter”

INCIDENTA - ORGANE GENITALE FEMININE ROMÂNIA, - 3 ARII GEOGRAFICE

(/1000 FEMEI; % DIN TOTAL NEOPLAZII LA FEMEI; % DIN TOTAL ORGANE GENITALE FEMININE)

Localizarea	Judetul Cluj (5 ani - 1974 - 78)				Judetul Timis (3 ani - 1970 - 72)				Reg. Banat (1 an - 1967)			
	Cifre absolute	%/1000	%	X	Cifre absolute	%/1000	%	X	Cifre absolute	%/1000	%	X
Toate localizările	3 866	214,9	100,0	—	2 209	221,9	100,0	—	1 446	218,3	100,0	—
Col uterin	655	36,4	16,9	69,5	363	36,5	16,4	58,4	308	36,5	21,3	66,0
Corp uterin	143	7,9	3,5	15,2	X	X	X	X	31	4,7	2,1	6,6
Alte localizări uter	X	X	X	X	134	13,5	6,0	21,5	1	0,2	0,1	0,2
Uter nespecificat	X	X	X	X	X	X	X	X	20	3,0	1,4	4,5
Corioepiteliom	4	0,2	0,1	0,4	5	0,5	0,4	0,8	X	X	X	X
Ovar	140	7,8	3,6	14,5	79	7,9	3,6	12,7	52	7,9	3,6	11,7
Alte organe genitale feminine	52	2,9	1,3	5,5	41	4,1	1,9	6,6	34	5,1	2,3	7,6
Toate localizările genitale feminine	942	—	24,4	100,0	622	—	28,2	100,0	446	—	30,8	100,0
	c.abs.	X	X	%	c. abs.	X	X	%	c. abs.	X	X	%

SURSE: ● Bolba Gh. — Cancer Incidence in Cluj County — Romania (1974 — 1978) in: Cancer Incidence in Five Continents vol. V; IARC Sci. Publ. No. 42 Lyon (1982)

● Georgescu D.C., Panaitescu R., Bărbuța Al. — Cancer Incidence in Banat Region Romania (1967) in „Cancer Incidence in Five Continents” vol. II, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg, New York (1970)

● Panaitescu R. — Cancer Incidence in Timis County — Romania (1970-72) in „Cancer Incidence in Five Continents” vol. III IARC Sci. Publ. No. 15, Lyon, 1976.

acestei localizări rezultă și din faptul că însumează peste 44% din totalul cancerelor genitale feminine din punctul de vedere al mortalității.

Studiul morbidității în județele Cluj și Timiș ne arată că neoplasmul colului uterin constituie circa 17% din toate cancerurile la femeie și între 60—70% din toate localizările cancerului genital feminin. Detalii statistice privind cancerul colului uterin, corpului uterin și ovarului pot fi găsite în tabelele cu mortalitatea și morbiditatea cancerelor sferei genitale feminine ale acestui capitol.

2.2.11.

Codul A-56:

Cancerul corpului uterin sau al altor părți ale uterului

O lungă perioadă de timp, în cadrul studiilor epidemiologic-statistice figura doar noțiunea de cancer *uterin*, fără să se facă vreo distincție între părțile sale componente, col și corp, după cum în unele clasificări internaționale a cauzelor de boală și deces figurează când noțiunea de „corp uterin”, când cea de „alte părți ale uterului”, în funcție de codul cancerului colului uterin.

De aceea revenim asupra importanței unui Registru al Cancerului, care singur poate să ducă la o clarificare, întrucât la decesul multor bolnave cu cancer al colului uterin, pe certificatul constatator al morții figura drept cauză de deces „cancer uterin”, *fără precizarea părții*, modificând datele clasificării.

Or, după cum se știe, cele două părți ale uterului diferă nu numai din punct de vedere clinic, dar și sub aspect epidemiologic. Cu privire la factorii de risc diferiți ai cancerului colului uterin în raport cu cei ai corpului uterin, ne vom mărgini să arătăm că aceste două segmente afectate neoplazic sînt dependente de vîrstă, primul aparținînd grupului de femei sexual active, al doilea segmentului vîrstnic al perioadei de postmenopauză, aproape 90% din totalul cazurilor avînd peste 45 de ani.

Cancerul corpului uterin ocupă locul 5 în structura cancerului femeii cu o rată de mortalitate de 7,40/0000, ceea ce reprezintă aproape 7% din totalul cancerelor la femeie în România (1981).

2.2.12.

Cancerul ovarului

Deși această localizare neoplazică nu este cuprinsă în lista „A” a clasificării Internaționale a Cauzelor de Boală și Deces, prin importanța pe care o are în patologia neoplazică a organelor genitale feminine necesită unele sublinieri. În primul rînd tendința de creștere a ratei mortalității într-un timp relativ scurt, de 12 ani, care ajunge de la 2,80/0000 la 4,90/0000 femei (între anii 1969 și 1981), în al doilea rînd prin aceea că reprezintă între 12—15% din

toate cancerule organelor genitale feminine, cu alte cuvinte fiecare a 7-a sau a 8-a femeie din acest grup suferă de cancer ovarian. Din punctul de vedere al morbidității România se situează printre ariile geografice cu incidență

CANCERUL OVARULUI - INCIDENȚA SPECIFICĂ VÂRSTEI
%000 FEMEI - ROMÂNIA, JUD. CLUJ, 1974-1978

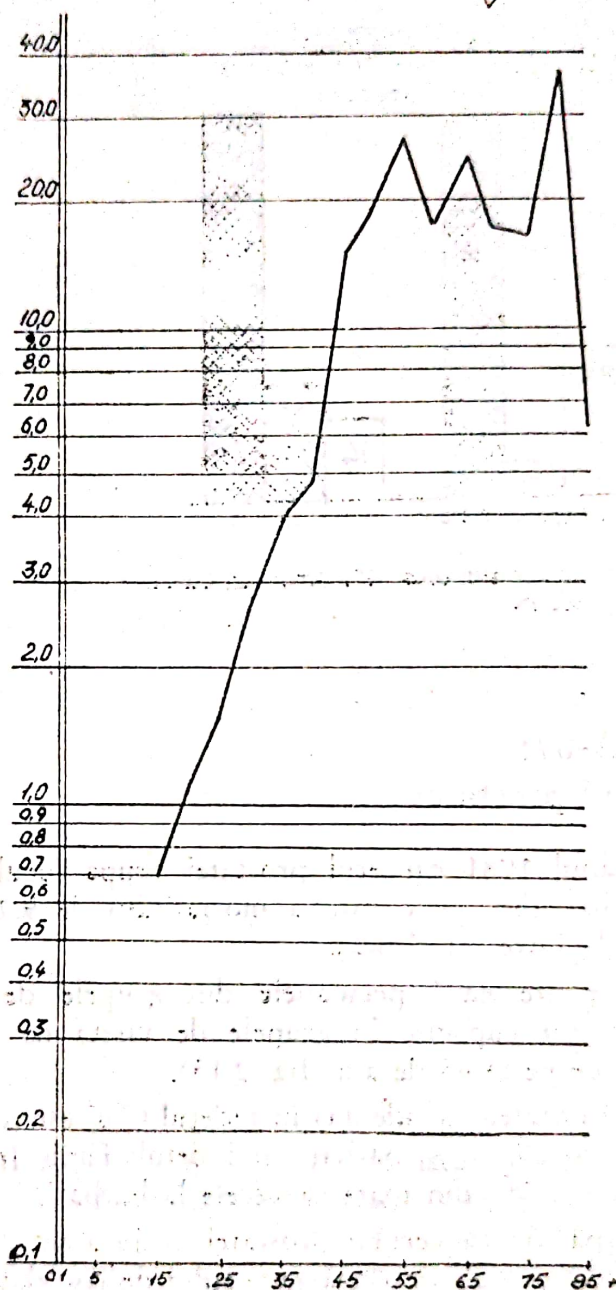


Fig. 2.11. — Cancerul ovarului — incidența specifică vârstei la 100 000 femei, România — jud. Cluj, 1974—1978.

medie între 5—100/0000 femei. Peste 85% din toate cancerule ovariene sînt cuprinse în grupele de peste 45 de ani, densitatea maximă fiind însă între 55—65 de ani (fig. 2.11). Supraviețuirea la 5 ani a acestei localizări este variabilă, fiind cuprinsă între 63—34%. Cancerul ovarian pune probleme de diagnostic precoce, diagnosticul în stadiile I—II fiind de numai 14% pentru județul Cluj (fig. 2.12).

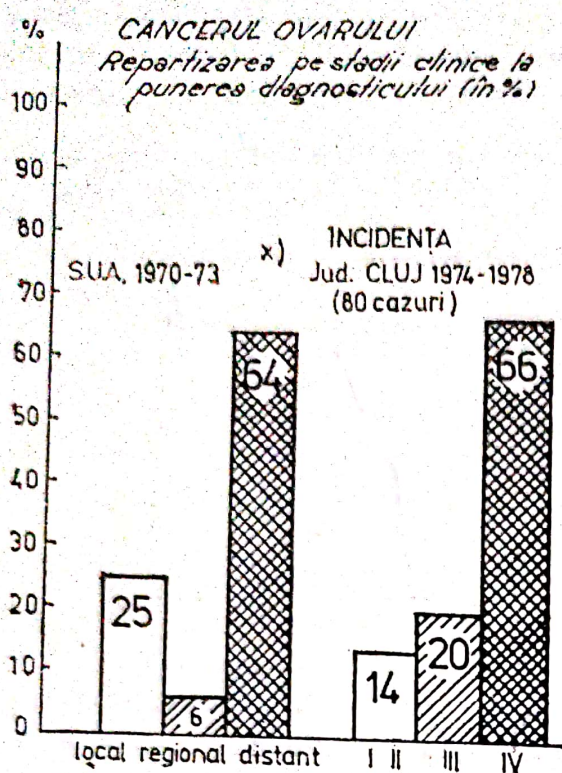


Fig. 2.12. — Cancerul ovarului, repartizarea pe stadii clinice la punerea diagnosticului (%).

x) Sursa: Cancer statistics 1979 American Cancer Society

2.2.13.

Codul A-57:

Cancerul prostatei

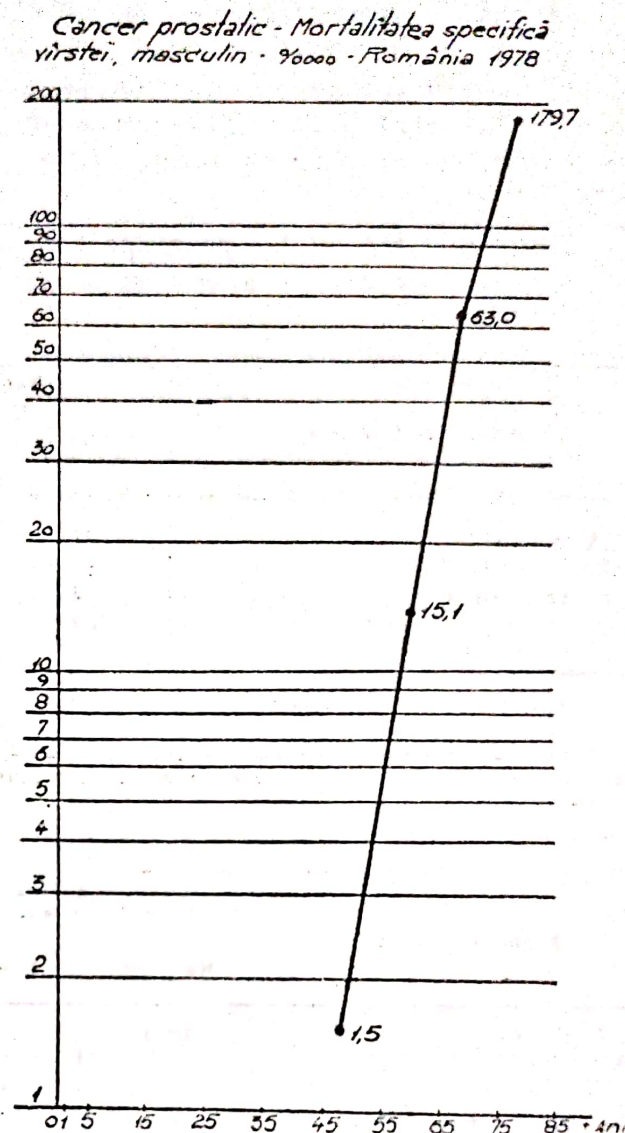
În anul 1981 cancerul prostatei ocupă locul III în structura cancerelor sexului masculin, cu o rată a mortalității de 9,20/0000 bărbați și cu o distribuție egală între sat și oraș.

Boala afectează persoanele din grupele de vârstă înaintate: 97,5% a cazurilor sînt cuprinse în grupele de vârstă de peste 55 de ani, iar 87,5% în vîrstă de peste 65 de ani (fig. 2.13).

Morbiditatea (incidența) în județul Cluj este de 11,60/0000 (perioada 1974—1978) și de 19,10/0000 bărbați în județul Timiș (perioada 1970—1972), reprezentînd circa 5% din toate cancerelor la bărbați.

În apariția cancerului prostatei ar juca un rol important un anumit dezechilibru hormonal, în afara factorului de risc dat de îmbătrînire. Se afirmă că dezvoltarea tumorală a prostatei poate fi întîrziată, uneori avînd loc chiar regresivitatea tumorală prin administrare de estrogeni. Alți autori afirmă că un alt risc în apariția cancerului prostatei ar fi starea maritală, acest cancer fiind mai frecvent la căsătorii. Există și supoziții privitoare la cancerogeneza chimică, drept urmare a expunerii la cadmiu în cazul poluării atmosferei cu această substanță, după cum există și ipoteza unei infecții virale ca factor etiologic.

Fig. 2.13. — Cancerul prostatei, mortalitatea specifică vârstei la 100 000 bărbați, România, 1978.



2.2.14.

Codul A-59:
Leucemiile

Rata mortalității prin leucemii în România a fost în anul 1981 de $4,8^0/0000$ la bărbați, reprezentând $3,3^0/0$ din toate decesele din cancer la acest sex și ocupând locul 6 în ordinea descrescândă a mortalității neoplazice masculine.

Sumarea leucemiilor și limfoamelor în așa-zisa grupare a „bolilor maligne de sistem,” ar instala acest grup pe locul 3 al mortalității prin cancer la bărbați, depășind din acest punct de vedere cancerul prostatei.

În peripada amintită femeile au avut o rată mai scăzută de mortalitate: $3,6^0/0000$ femei, adică $3,2^0/0$ din totalul neoplaziilor maligne feminine.

Distribuția mortalității prin leucemii în cele două medii este aproape egală: $3,8^0/0000$ (sexe întrunite) în urban și $3,5^0/0000$ în rural.

România face parte din grupa de țări cu mortalitate medie prin leucemii, ocupând locul 32 la bărbați și locul 29 la femei în anul 1977.

Avînd în vedere faptul că în cadrul studiului de mortalitate leucemiile sînt prezentate într-un singur grup, fără să se facă vreo distincție între diferitele forme de leucemii din punctul de vedere al evoluției sau al grupului celular, în tabelele 2.VIII și 2.IX prezentăm situația incidenței diferitelor forme de leucemii înregistrate în județul Cluj, într-o perioadă de 5 ani (1974—1978).

Distribuția leucemiilor pe grupe de vîrstă pentru România este cuprinsă în capitolul corespunzător al epidemiologiei generale.

TABELUL 2.VIII

Forme de leucemie	Masculin		Feminin	
	Cifre absolute	%	Cifre absolute	%
LLA și LLC	33	29,0	20	28,0
LGC și LMA	12	11,0	5	7,0
L monocitare	4	4,0	1	1,0
Alte forme și nespecificate*	63	56,0	48	64,0

* Sînt incluse LA — fără precizarea tipului celular.

LLA = leucemie limfocitară acută; LLC = leucemie limfocitară cronică; LGC = leucemie granulocitară cronică; LMA = leucemie mielocitară acută; LA = leucemii acute (fără altă precizare); L = leucemii

TABELUL 2.IX

Forme de leucemie	Rata anuală la 1 000 000 locuitori		Raport M : F	
	Masculin	Feminin	Cifre absolute	Raport
LLA și LLC	18,5	11,1	33 : 20	1,7 : 1,0
LMA și LGC	6,7	2,7	12 : 5	2,4 : 1,0
L monocitare	2,2	0,5	4 : 1	4,0 : 1,0
Alte forme și nespecificate*	35,4	26,7	63 : 48	1,3 : 1,0
T o a t e	62,9	41,4	112 : 74	1,5 : 1,0

* Sînt incluse LA — fără precizarea tipului celular;

LLA = leucemie limfocitară acută; LLC = leucemie limfocitară cronică; LGC = leucemie granulocitară cronică; LMA = leucemie mielocitară acută; LA = leucemii acute (fără altă precizare); L = leucemii.

2.2.15.

Codul A-59:

Neoplaziile maligne limfatice și hematopoietice

Mortalitatea în cadrul acestui grup, care cuprinde practic limfoamele hodgkiniene și nehodgkiniene, este de 4,6⁰ / 0000 bărbați și 2,7⁰ / 0000 femei. Sub aspectul cifrelor absolute și al ratei mortalității (sexe întrunite) distribuția este, ca și în cazul leucemiilor, practic egală între mediul urban și rural.

Cu ratele de mortalitate scăzută, România figurează pentru acest cod pe locul 31 la bărbați și pe locul 36 la femei din 43 de țări ale lumii.

Aspectele legate de morbiditatea limfoamelor în România sînt cuprinse în Epidemiologia Generală.

Structura mortalității prin limfoamele h Hodgkiniene și neH Hodgkiniene o prezentăm în tabelul 2.X, potrivit datelor furnizate cu amabilitate de Institutul Oncologic din București, pentru anul 1981.

TABELUL 2.X

Localizare	Total		Masculin		Feminin		Urban		Rural	
	c. abs.	%/1000	c. abs.	%/1000	c. abs.	%/1000	c. abs.	%/1000	c. abs.	%/1000
Limfom Hodgkin	215	0,9	139	1,26	76	0,67	114	1,07	111	0,86
Non-Hodgkin	605	2,7	374	3,39	231	2,04	298	2,8	307	2,62

NOTĂ: Cifrele absolute și indicatorul pentru mediul urban și rural sînt pentru sexe intrunite.

Limfoamele sînt de două ori mai frecvente la bărbați decît le femei, iar în privința raportului urban/rural acesta este egal pentru ambele sexe.

2.3.

Tendințele evolutive ale neoplaziilor maligne în România

Pentru a sublinia importanța și caracteristica evoluției în timp a cancerului, autorii americani se referă la „tendințe seculare” (secular trends), pornind de la ideea că în această privință nu pot fi trase concluzii ferme decît după o perioadă mai îndelungată de timp, de ordinul a zecilor de ani.

Înainte de a detalia datele evoluției cancerului în general și ale principalelor localizări, trebuie arătat că datorită clasificării internaționale a cauzelor de boală și deces (revizia a 4-a, 1929) utilizată în România în perioada 1931—1939, datele care arată tendințele evolutive ale cancerului pot fi prezentate pentru o durată de o jumătate de secol doar pentru următoarele localizări: cavitate bucală și faringe, tub digestiv și peritoneu, uter (toate părțile), sîn și piele, pentru ambele sexe.

Date comparabile cu cele prezentate de autorii americani sînt disponibile începînd cu anul 1962 pentru principalele localizări ale cancerului în România: stomac, bronho-pulmonar, col uterin, colon și rect, prostată, leucemii, pentru o perioadă mai scurtă de 20 de ani (1962—1981), suficientă ca să permită schițarea tendințelor evolutive ale acestor neoplazii maligne.

Din datele ce figurează în tabele și grafice se constată o creștere continuă a mortalității prin neoplazii maligne în România în ultimii 50 de ani, fenomen de altfel valabil și pentru alte țări și arii geografice din lume.

Factorii care au determinat acest fenomen general de creștere sînt:

a) scăderea mortalității generale și în special a celei infantile determinată de apariția antibioticelor și a aplicării unor noi măsuri profilactice (exemplu imunoprolifaxia antidifterică, antipoliomielitică etc.) și terapeutice cu reducerea accentuată a letalității unor boli importante (exemplu sifilisul, tuberculoza etc.), ajungîndu-se chiar la eradicarea altora (exemplu malarie);

b) creșterea continuă a duratei medii de viață a populației de la 42 de ani în anul 1932 la peste 70 de ani în anul 1981. Acest fenomen a determinat

creșterea populației vîrstnice (peste 60 de ani) în sînul populației, crescînd în acest fel și riscul de îmbolnăvire prin cancer;

c) îmbunătățirii calității diagnosticului bolilor și a precizării cauzelor reale de deces;

d) ameliorarea continuă a metodologiei și exactității statisticilor demografice și sanitare;

e) apariția sau creșterea cantitativă a unor factori de risc, determinînd creșterea reală a incidenței și mortalității prin cancer în general, a unor localizări canceroase (bronho-pulmonar, sîn, leucemii, colon și rect) în particular.

De la locul 10 cu 2% din totalul deceselor cum erau neoplaziile maligne în anul 1932, cancerul ocupă în 1981 locul al doilea cu 12,6% din totalul deceselor din acest an. Altfel spus, dacă în perioada 1931—1939 la 50 de decese (sexe întrunite) numai unul era datorat cancerului, în anul 1981 fiecare al 8-lea deces (sexe întrunite) a fost dat de această boală.

EVOLUȚIA MORTALITĂȚII PRIN CANCER ÎN ROMÂNIA ÎN PERIOADA 1932 - 1981 - pe sexe

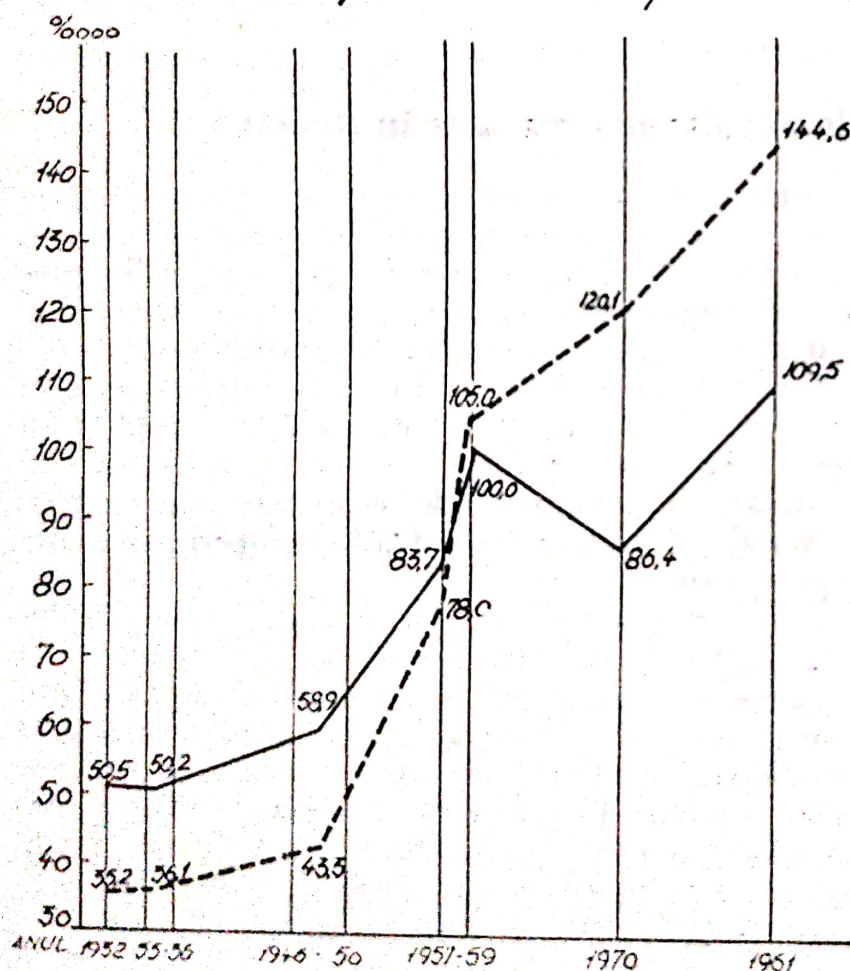


Fig. 2.14. — Evoluția mortalității prin cancer în România în perioada 1932—1981, pe sexe.

SURSA : Perioada 1932-59 - GEORGESCU D.C.

ANUL 1970 - SEGI M.

1981 - COMISIA DE SPECIALIȘTI PENTRU CANCER
MINISTERUL SĂNĂTĂȚII

Cu 13,4% pentru sexul masculin și 11,7% pentru cel feminin din totalul deceselor pe sexe în anul 1981 s-a ajuns că fiecare al 7-lea bărbat și fiecare a 8-a femeie sucombă prin cancer.

Aşa cum s-a mai spus, cancerul ocupă locul al 2-lea ca importanţă în cadrul mortalităţii generale, după grupa deceselor date de bolile aparatului circulator, locul al 3-lea fiind ocupat de decesele provocate de bolile aparatului respirator. Menţionăm că ocuparea locului secund de către cancer în acest „clasament” s-a făcut după anul 1975, când locul al 2-lea era ocupat de decesele prin bolile aparatului respirator.

Este interesant de urmărit evoluţia mortalităţii pe sexe în această jumătate de secol. Dacă pînă în 1957 exista o supramortalitate feminină în cadrul neoplaziilor maligne în România, începînd cu anul 1959, constatăm că mortalitatea prin cancer este net „dominată” de sexul masculin (fig. 2.14.).

Potrivit graficului din fig. 2.15. a evoluţiei mortalităţii prin cancer — sexe întrunite — şi în cele două medii — urban şi rural — se observă:

- existenţa unui profil paralel între mortalitatea prin cancer a întregii populaţii, în raport cu cea din mediul rural;
- o curbă de creştere accentuată între 1932—1939, urmată de un traseu cu oscilaţii între anii 1940—1955 în mediul urban, în raport cu mortalitatea per total a ţării;
- tendinţa de apropiere a curbei mortalităţii între cele două medii în perioada de după anul 1957;

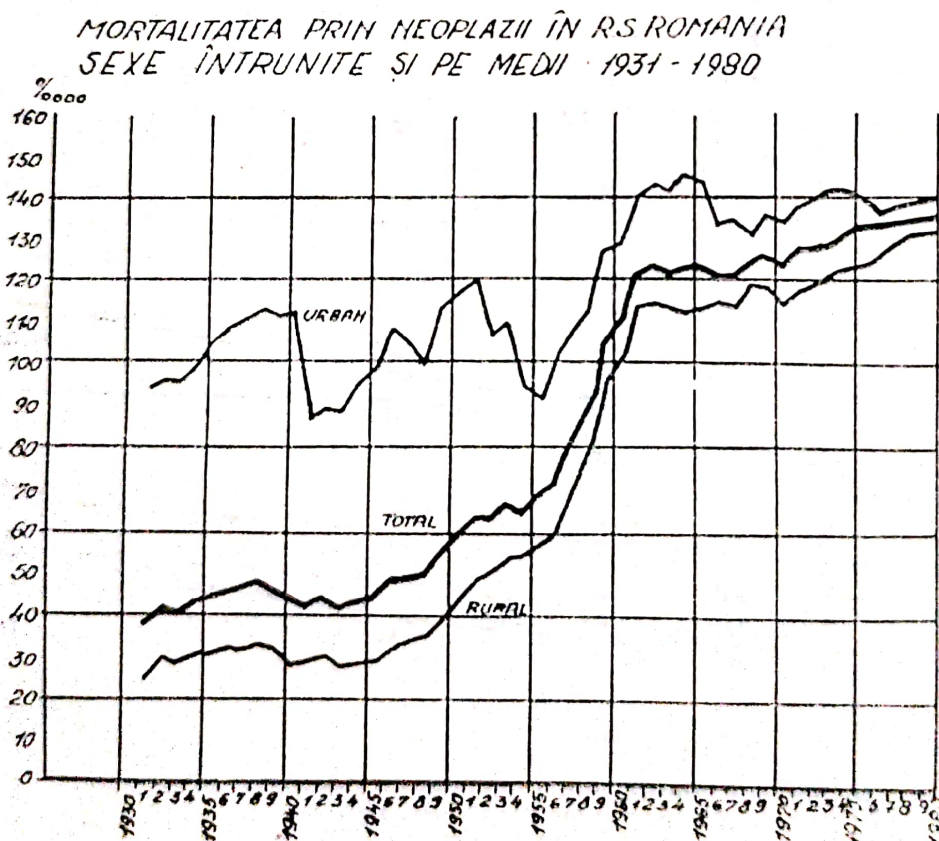


Fig. 2.15. — Evoluţia mortalităţii în neoplazii maligne în România — sexe întrunite — pe medii între 1931—1980.

— o evoluţie practic staţionară pînă în anul 1945, pentru toată populaţia, urmată de o ascensiune lentă pînă în anul 1945, după care devine brusc ascendentă pînă în anul 1960, fiind urmată de o încetinire a ritmului de creştere a mortalităţii cancerului pentru întreaga populaţie şi în ambele medii.

2.4.

Evoluția mortalității principalelor localizări pe sexe

2.4.1.

Sexul feminin

Cancerul gastric. Curba mortalității acestei localizări cunoaște o creștere între anii 1931—1962 (mortalitatea anului 1931 aproximată din calcul la 17,00/0000 femei), urmată de o scădere pînă în prezent, de la 26,20/0000 femei la 13,60/0000 femei (1981).

Cancerul uterului (toate părțile). Cu indicatorul mortalității de 17,60/0000 de femei crește pînă în anul 1963 la 26,30/0000, la egalitate cu cancerul gastric din acel an, scăzînd lent pînă la 19,60/0000 în 1981.

Cancerul colului uterin. Din figura 2.16 constatăm o ușoară creștere de la 10,20/0000 femei în anul 1967, la 12,00/0000 în 1973, urmată de o evoluție staționară pînă în prezent (1981). Este interesant de remarcat faptul că înce-

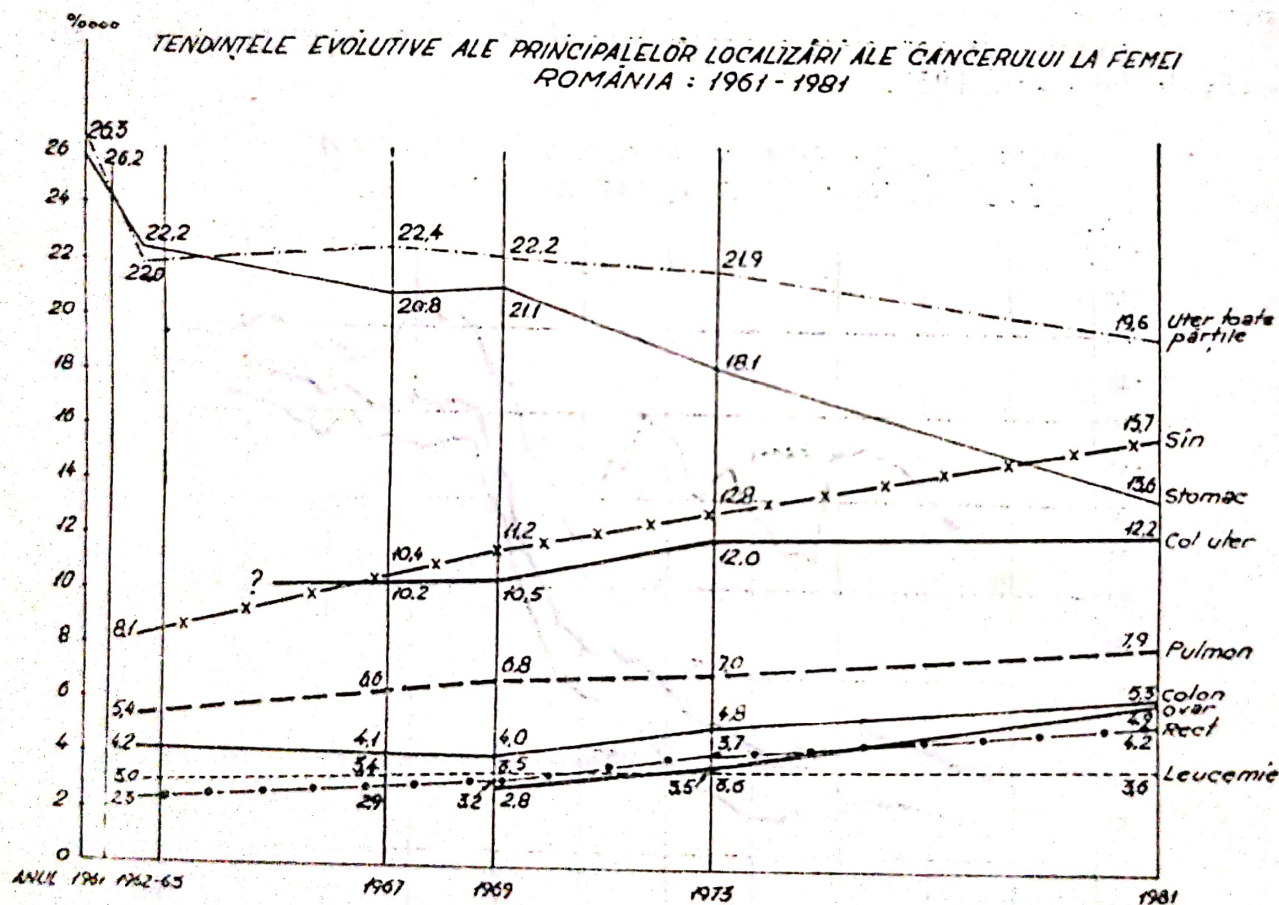


Fig. 2.16 — Tendințele evolutive ale principalelor localizări ale cancerului la femeie în România: 1961—1981.

pînd cu anul 1967 mortalitatea prin cancer al colului uterin este depășită de mortalitatea prin cancer al sînului, curba evolutivă a acestei ultime localizări arătînd o ascensiune continuă, cu valori extreme de 3,30/0000 femei în perioada 1935—1936 și de 15,70/0000 femei în anul 1981, ceea ce exprimat în raport cu valorile inițiale ale indicatorului reprezintă o creștere de 375%. De altfel, cancerul sînului la femeie ajunge să depășească mortalitatea prin cancer gastric și să ocupe în 1981 primul loc în mortalitatea prin cancer la femeie.

**SITUAȚIA COMPARATIVĂ A PRINCIPALILOR NEOPLAZII MALIGNE LA FEMEIE ÎN ROMÂNIA
ÎN TRE ANII 1935 - 1936 ȘI 1981**

Localizarea	Media anilor 1935 - 36 ^a)		Media anilor 1962 - 1963 ^b)		Anul 1969 ^c)		Anul 1973 ^c)		Anul 1981 ^c)	
	C. abs.	%	C. abs.	%	C. abs.	%	C. abs.	%	C. abs.	%
Cavitatea bucală și faringe	50	0,2	n	100,0	109	1,1	142	1,3	163	1,4
Esôfag			n	?	74	0,7	53	0,5	71	0,6
Stomac			n	22,2	2145	21,1	1913	18,1	1542	13,6
Colon			n	4,2	403	4,0	507	4,8	606	5,3
Rect			n	2,3	330	3,2	389	3,7	470	4,2
Alte organe digestive și peritoneu			n	n	1505	14,8	1616	14,6	1661	14,7
Total tub digestiv și anexe	2064	21,2	n	?	4457	43,8	4478	41,7	4350	38,3
Laringe			n	0,7	66	0,6	72	0,7	56	0,5
Plămîn			n	5,4	694	6,8	740	7,0	894	7,9
Alte localizări aparat respirator			n	?	39	0,4	39	0,4	n	n
Total aparat respirator	110	1,1	n	?	799	7,8	851	8,1	950	8,4
Piele (melanic + nemelanic)			n	100,0	140	1,4	175	1,7	197	1,7
Sîn	109	1,1	n	100,0	1142	11,2	1358	13,8	1779	15,7
Col uterin					1073	10,5	1268	12,0	1386	12,2
Alte părți uterine					1196	11,7	1048	9,9	830	7,4
Uter toate părțile	1714	17,6	n	?	2269	22,2	2316	21,9	2216	19,6
Ovar					283	2,8	370	3,5	555	4,9
Limfom Hodgkin					63	0,6	73	0,7	76	0,7
Limfom nehodgkinian					215	2,1	232	2,2	231	2,0
Total limfoame					278	2,7	305	2,9	307	2,7
Leucemiid			n	100,0	360	3,5	383	3,6	402	3,6

NOTĂ: a) = sursa Georgescu D.C.; b) = sursa Segi M.; c) = sursa Comisia Spec. Cancer Min. Sănăt.; d) = neincluse în CIB (1929); n) = date nedisponibile; ? = nu este calculat.

SITUAȚIA COMPARATIVĂ A PRINCIPALELOR NEOPLAZII MALIGNE LA BĂRBAȚI ÎN ROMÂNIA ÎNȚRE ANII 1935-36 ȘI 1981

Localizarea	Media anilor 1945-36a)		Media anilor 1962-1963b)		Anul 1969c)		Anul 1973c)		Anul 1981c)	
	C. abs.	%/1000	C. abs.	%/1000	%	C. abs.	%/1000	%	C. abs.	%
Cavitatea bucală și faringe	160	1,7	2,6	100,0	3,2	317	100,0	2,9	535	100,0
Esofag			2,0	?	1,8	255	4,1	2,1	208	3,3
Stomac			38,9	?	35,0	3538	56,3	33,2	2971	46,7
Colon			3,9	?	3,6	354	5,6	3,7	587	9,2
Rect			2,7	?	3,3	327	5,2	3,7	502	7,9
Alte organe digestive și peritoneu			n	?	18,5	1814	28,8	19,0	2096	32,9
Total tub digestiv și anexe	2999	24,3	n	?	62,2	6288	100,0	61,3	6364	100,0
Laringe			4,4	?	4,9	476	13,8	5,7	529	11,6
Bronho-pulmonar			24,8	?	29,4	2887	84,1	31,3	4043	88,4
Alte organe aparat respirator			n	?	0,7	73	2,1	0,6	n	-
Total	260	2,8	n	?	35,0	3436	100,0	37,6	4572	100,0
Piele (melanic și nemelanic)										
Prostată	131	1,4	1,1	100,0	1,2	115	100,0	1,9	212	100,0
			8,7	100,0	8,2	807	100,0	8,5	1009	100,0
Linfom Hodgkin										
Linfom nehodgkinian										
Total limfoame										
						116	25,5	1,4	139	27,1
						339	74,5	3,9	371	72,9
						455	100,0	5,3	513	100,0
Leucemie										
			4,3	100,0	3,5	360	100,0	4,6	532	100,0

NOTĂ: a) = sursa Georgescu D.C.; b) = sursa Segi M.; c) = sursa Comisia Spec. Cancer Min. Sănăt.; d) = neincluse în CIB (1929); e) = date nedisponibile; ? = nu este calculat.

Cancerul ovarului crește de asemenea brusc, practic dublându-se într-o perioadă relativ scurtă de 12 ani.

Cancerul bronho-pulmonar la femeie crește progresiv în ultimii 20 de ani, ascensiunea curbei fiind însă mult mai puțin accentuată în raport cu cea constatată la bărbați.

Cancerul colonului și rectului, ca și leucemiile arată creșteri lente în ultimii 20 de ani. Dacă se ia în considerare raportul existent între cele două sexe în privința leucemiilor (1,3/1 în favoarea sexului masculin), cunoscând valoarea indicatorului mortalității prin leucemii de $0,60/0000$ (sexe întrunite) în anul 1931, se poate aproxima o mortalitate de $0,250/0000$ femei în acest an. În consecință, în perioada 1931—1981 leucemiile la femeie cresc de peste 10 ori.

2.4.2.

Sexul masculin

Cancerul gastric, pe care l-am apreciat prin calcul estimativ la 75% din totalul cancerului tubului digestiv și peritoneului, are un indicator de $18,20/0000$ bărbați. Pornind de la această valoare se observă în timp o creștere ascendentă pînă în anul 1962, cînd atinge valori maxime ($38,90/0000$), urmată de o scădere continuă, care ajunge în anul 1981 valoarea de $26,90/0000$ bărbați (tabelul 2.XII)

Cancerul bronho-pulmonar are în schimb o ascensiune bruscă în ultimii 20 de ani (1962—1981) de la $24,80/0000$ la $36,70/0000$, situîndu-se astfel de la mijlocul deceniului al 7-lea pe primul loc al mortalității prin cancer la bărbați în România.

Cancerul colonului și rectului, prostatei, leucemiile sînt localizări cu creșteri progresive, deși lente, în ultimii 20 de ani.

Cancerul cavității bucale și faringelui crește de la $1,70/0000$ la $4,90/0000$ bărbați în ultimii 50 de ani (fig. 2.17).

Distribuția teritorială a cancerului, așa cum a fost prezentată cu ajutorul cartogramelor mortalității prin cancer pentru toate localizările, respectiv localizarea gastrică și sîn, prezintă aspecte similare pînă la un punct cu cele existente în perioada deceniului al 4-lea. Se remarcă în mod constant o „densitate” a mortalității prin cancer mai accentuată în vestul (jud. Arad și Timiș) și centrul țării (jud. Covasna). În aceste județe, care trebuie considerate arii geografice cu risc crescut în România, sînt necesare studii epidemiologice sistematizate, descriptive și analitice, care ar putea să aducă unele lămuriri în problemele de carcinogeneză.

În figura 2.18 se vede distribuția procentuală pentru principalele localizări ale cancerului, pe sexe, atît ca incidență, cît și ca mortalitate potrivit datelor disponibile.

Deși considerată ca țară în curs de dezvoltare, România are sub aspectul mortalității generale o situație asemănătoare țărilor dezvoltate dacă luăm în considerare criteriul potrivit căruia peste 2/3 din cauzele de deces (sexe întrunite) sînt date de bolile cardio-vasculare, cancer și alte boli cronice netransmisibile. În 1978, bolile cardiovasculare și cancerul luat la un loc (sexe întrunite) însumau în România 68% din toate decesele. În acest fel, aceste categorii de boli au o importanță crescîndă și în țările în curs de dezvoltare, pe măsură ce acestea trec prin procesul de industrializare și urbanizare. Fenomenul este explicabil prin controlul eficient al bolilor transmisibile,

reducerea mortalității generale, prelungirea duratei medii de viață și în consecință a creșterii riscului de îmbolnăvire prin bolile cronice degenerative ale vârstei mature și a bătrâneții, printre care și cancerul.

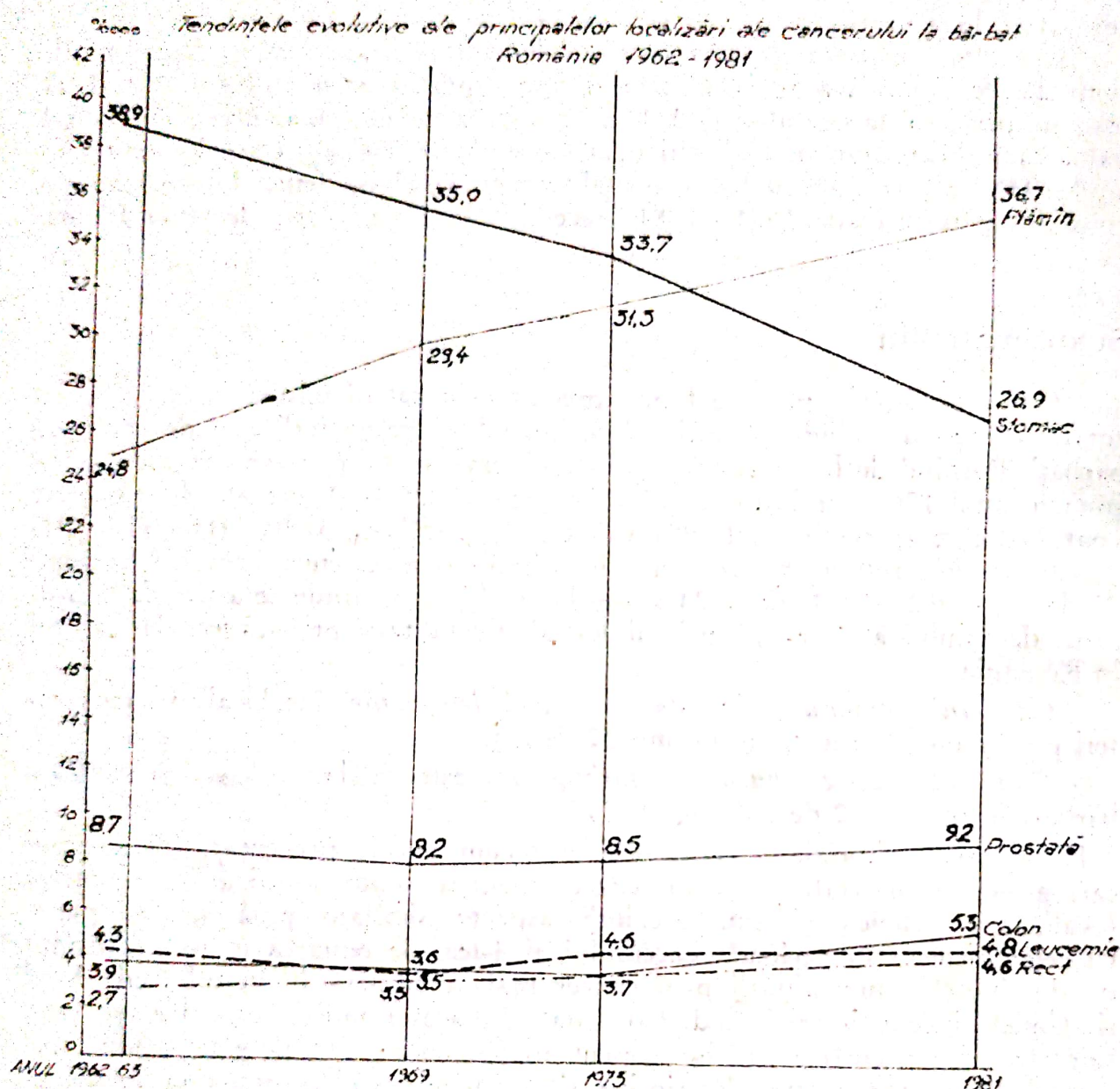


Fig. 2.17. — Tendințele evolutive ale principalelor localizări ale cancerului la bărbat în România: 1962—1981.

Bolile cronice netransmisibile sînt determinate, ca și bolile transmisibile, de condițiile de mediu și viață. Astfel, uzul de țigarete, abuzul de alcool și grăsimi alimentare, ca și alți factori de risc al comunităților de tip industrial stau la originea bolilor coronariene și a cancerului pulmonar.

Pentru o prognoză în privința evoluției în viitor a cancerului în România, trebuie să se aibă în vedere mai mulți factori.

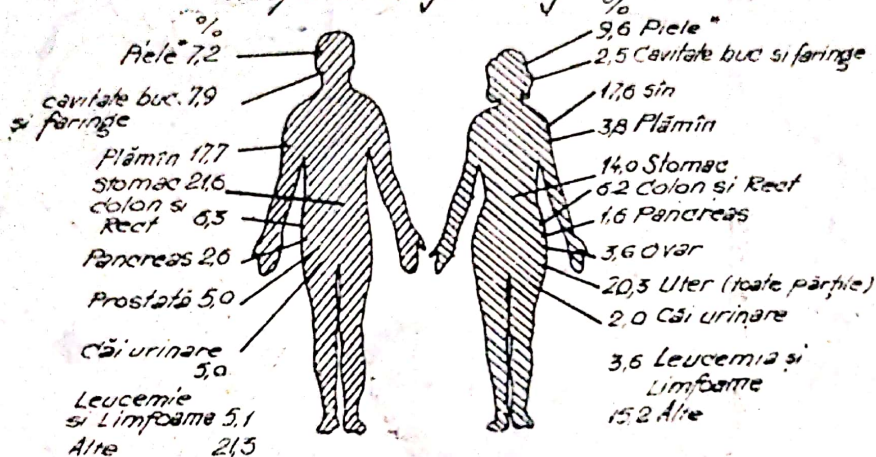
Sub aspect demografic, studiile de prognoză au estimat o creștere a populației României pînă în 1990 la 24—25 de milioane locuitori. Potrivit acestei ipoteze speranța de viață la naștere crește prin scăderea mortalității infantile, scăderea mortalității generale fiind rezultatul reducerii accentuate a morta-

lității specifice la toate vîrstele, cu instalarea în această perioadă de perspectivă a îmbătrînirii demografice a populației țării noastre.

Un alt factor care va influența evoluția și structura bolii canceroase este indicele de urbanizare, care în anul 1971 era de 41,1%, iar în anul 1990 se prevede să fie de 51—52%.

INCIDENTA

Repartizarea procentuală a principalelor localizări neoplazice. Jud. Cluj - România, 1974-78



MORTALITATE

Repartizarea procentuală a principalelor localizări neoplazice România 1981

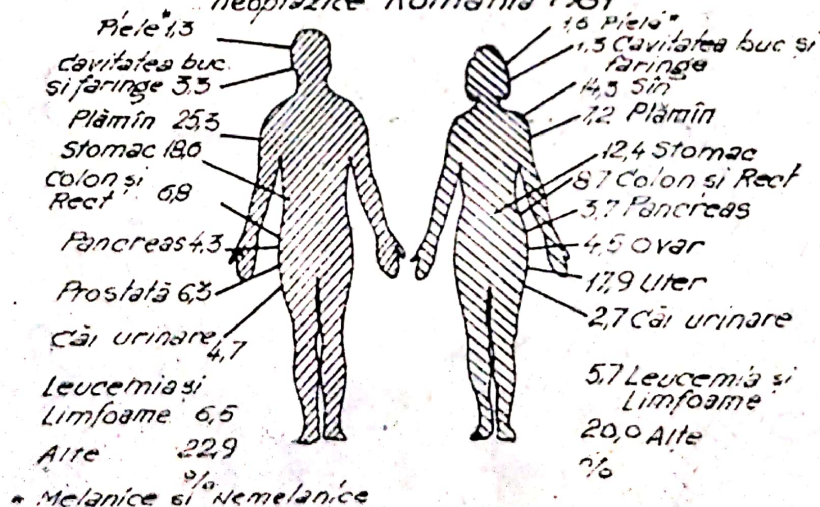
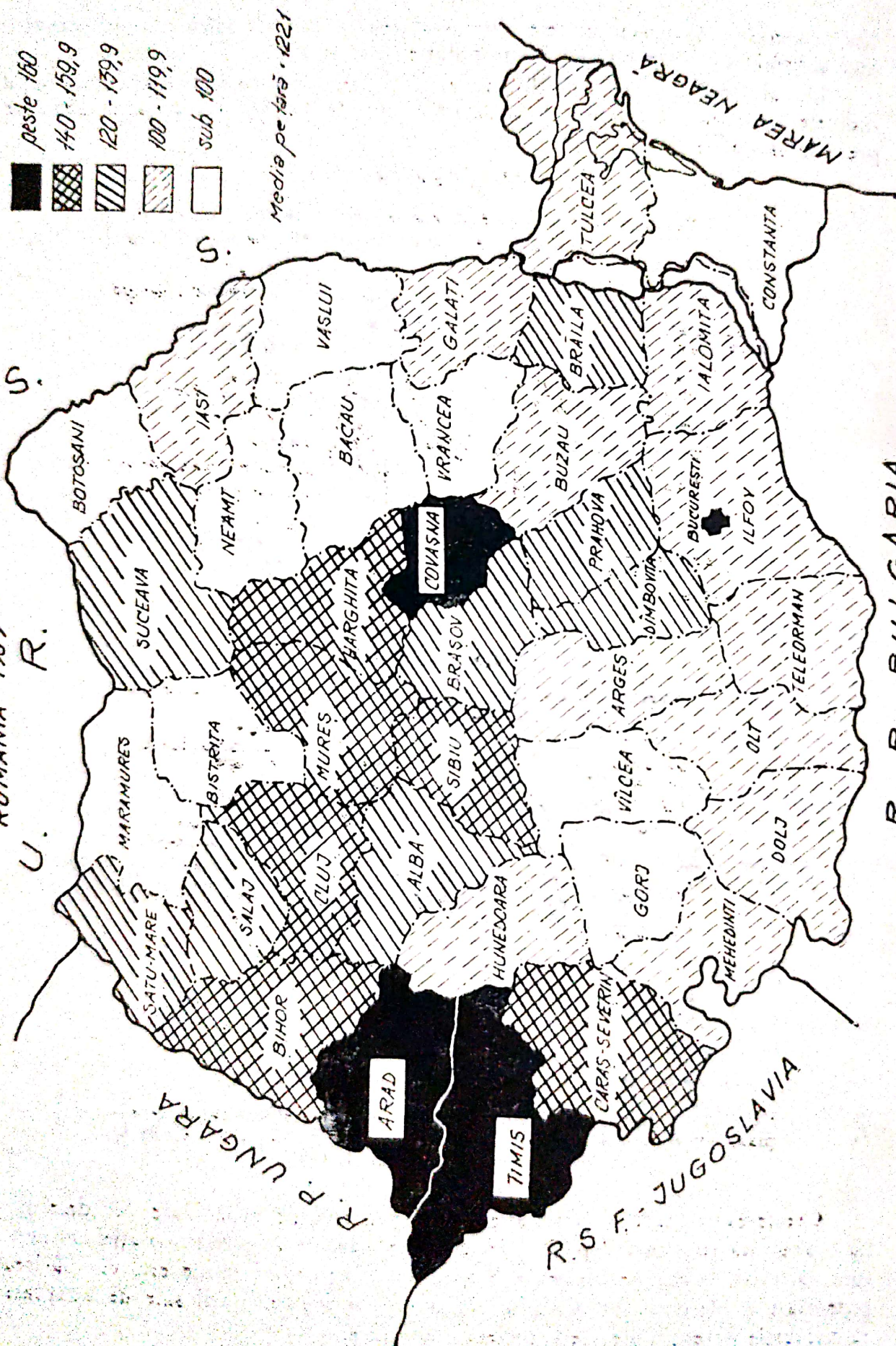


Fig. 2.18. — Repartizarea procentuală a principalelor localizări neoplazice în România, pe sexe: incidență (jud. Cluj-România: 1974—1978) și mortalitate (întreaga țară: 1981).

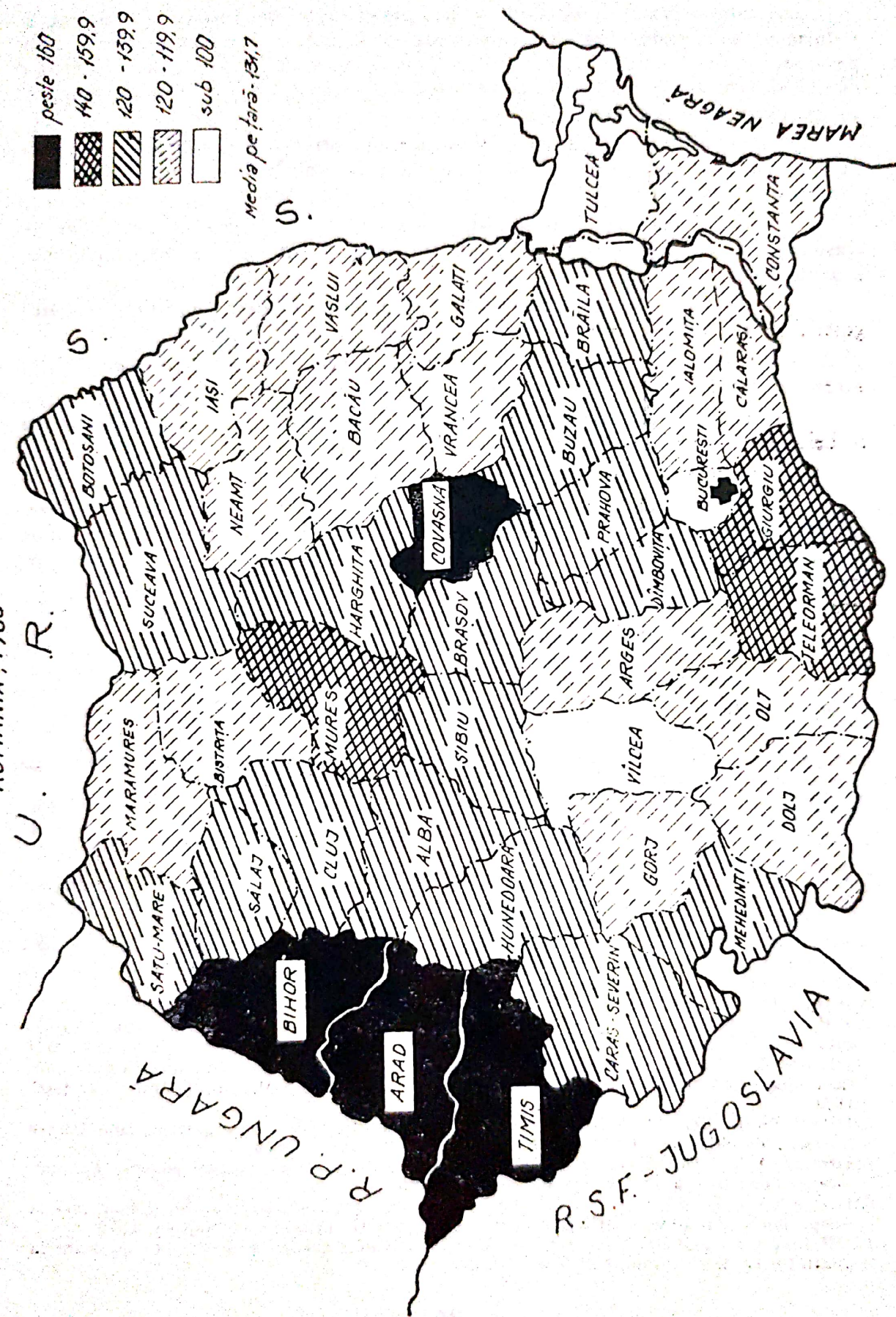
Creșterea numărului populației, ca și procesul de urbanizare vor determina o anumită structură a producției agricole, care să asigure populației un consum rațional, bazat pe alimente bogate în proteine, vitamine etc. cu mărirea potențialului defensiv al organismului uman și a capacității sale de adaptare la ritmurile și tensiunile vieții societății viitoare.

NEOPLAZII MALIGNE : TOATE LOCALIZĂRILE. MORTALITATE - ‰0000 - SEXE ÎNTRUNITATE
ROMÂNIA 1969



R. P. BULGARIA
CARTOGRAMA NR. 6

NEOPLAZII MALIGNE : TOATE LOCALIZĂRILE. MORTALITATE ‰ - SEXE ÎNTRUNITE
ROMÂNIA, 1980



R. P. BULGARIA
CARTOGRAMA NR. 7

Factorul poluare, important și în cancer, este de fapt o consecință a industrializării nesupravegheate. Cu toate că România s-a angajat mai târziu pe calea industrializării accelerate și prin urmare a profitat de experiența țărilor dezvoltate, nu a putut evita totdeauna apariția unor surse de poluare, în special a aerului și apei.

În final, având în vedere și tendințele evolutive ale cancerului în ultimii 20—50 de ani, am putea schița o anumită prognoză a evoluției viitoare a cancerului în România. Astfel:

- mortalitatea prin cancer (toate localizările) va avea un ritm lent de creștere, cu apropierea nivelurilor dintre oraș și sat, dintre sexul masculin și feminin;

- unele localizări ale cancerului vor marca o scădere continuă: cancerul gastric pentru ambele sexe, cancerul uterin pentru sexul feminin;

- creșteri mai accentuate vor suferi cancerul bronho-pulmonar (mai accentuat la bărbați) și cancerul sînului la femeie;

- alte localizări ale cancerului vor crește lent: colon și rect pentru ambele sexe, ovarul la femeie, prostata la bărbați;

- iar altele vor evolua staționar: leucemiile.

Ținând seama de aceste elemente, lupta împotriva bolilor cronice degenerative în general și împotriva cancerului în special va determina aplicarea de planuri complexe de acțiune în domeniul sănătății publice, ca parte integrantă a planului de stat de dezvoltare economică și socială a țării. Creșterea mortalității prin aceste boli impune o orientare cu precădere în domeniul activității profilactice și de cercetare medicală.

Bibliografie

- BOLBA GH. — Răspîndirea geografică a cancerului; aspecte de epidemiologie și patologie geografică. Referat (I) la Teza de doctorat, I.M.F., Cluj-Napoca, 1976
- BOLBA GH. — Rezultatele preliminare ale cercetării privind incidența cancerului în județul Cluj. Referat (II) la Teza de doctorat, I.M.F. Cluj-Napoca, 1976
- BOLBA GH. — Elemente de epidemiologie în cancerul gastric. Comunicare — Conf. Jud. U.S.S.M. Fil. Mureș, Luduș, 1976
- BOLBA GH. — Cancer Incidence in Cluj-County, România, 1974—78, in: Waterhouse, Muir C., Shanmugaratnam K & Powell J. eds. Cancer Incidence in Five Continents, vol. IV, Lyon, IARC Sci. Publ. No. 42, 1982
- BOLBA GH., CHIRICUȚĂ I. — Rezultatele unui studiu epidemiologic retrospectiv asupra cancerului gastric în Transilvania, vol. rezum. Congres național de gastro-enterol., Cluj Napoca, 1976, p. 209—210
- BOLBA GH., CHIRICUȚĂ I. — *Med. Biol. Environment* (Bruxelles), 1976, 3, 12
- BOLBA GH., CHIRICUȚĂ I. — Aspecte de patologie geografică și epidemiologie a cancerului bronho-pulmonar, Comunicare la Consfătuirea interjud. U.S.S.M., Baia Mare, 1976
- CHIRICUȚĂ I., BOLBA GH. — Elemente de epidemiologie a cancerului bronho-pulmonar, Comunicare la Consfătuirea pe țară de pneumoftiziologie, U.S.S.M., Filiala Ilfov, Balotesti, 1974
- CHIRICUȚĂ I., BOLBA GH. — Aspecte ale morbidității prin cancer gastric, Consfătuirea interjud. de chirurgie, U.S.S.M., Filiala Mureș, Tîrnăveni, 1976.
- CHIRICUȚĂ I., BOLBA GH. — Epidemiologia cancerului gastric în țara noastră, Comunicare la Consfătuirea jud. U.S.S.M., Suceava, 1982
- CHIRICUȚĂ I., BOLBA GH. — Epidemiologia cancerului în Transilvania, Comunicare la Simpozionul „Progrese în științele medicale”, U.S.S.M. Filiala Cluj-Napoca, 1982
- CHIRICUȚĂ I., BOLBA GH., LAZĂR L. — Melanomul malign al mîinii, Comunicare la Consfătuirea de chirurgie, U.S.S.M., Brașov, 1975

- CHIRICUȚĂ I., COMES V., BOLBA GH. — Date noi referitor la epidemiologia cancerului gastric în Transilvania, Vol. rezum. U.S.S.M., Simpozionul anual de gastroenterologie, 44, Tușnad, 1972
- CHIRICUȚĂ I., GALATĂR S., ORDEANU A., BOLBA GH. — Reorganizarea problemei cancerului gastric, Consfătuirea interjud., U.S.S.M., Filiala Sibiu, 1980
- GEORGESCU D. C. — Mortalitatea prin tumori maligne în România, Ed. Inst. Central Statistică, București, 1939
- GEORGESCU D. C., MUREȘAN P., NEGRU I., NEGRU JENICA — *Acta Un. Int. Cancr.*, 1961, XX, 652—655
- GEORGESCU D. C. — *Oncologia (Buc.)*, 1969, VII, 3, 225—253
- GEORGESCU D. C., PANAITESCU R., BĂRBUȚĂ AL. — Cancer Incidence in Banat Region România, 1967, in: Doll R., Muir C., & Waterhouse J. A. H. „Cancer Incidence in Five Continents, vol. II, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg, New York, 1970
- * * * — Inst. Oncol. București — Situația cancerului în România în anul 1980 și 1981. Raport Comisia Spec. pentru Cancer, Min. Sănăt.
- * * * — Comisia Spec. Cancer — Min. Sănăt. — Situația actuală și propuneri privind prevenirea și combaterea cancerului, București, 1971
- * * * — Comisia Spec. Cancer — Min. Sănăt. — Analiza îndeplinirii ord. M.S. nr. 432/1971, privind profilaxia și asistența medicală în boala canceroasă și programul de măsuri, Raport, București, 1975
- PANAITEȘCU R. — Cancer Incidence in Timiș County Romania, 1970—72, in Waterhouse J., Muir C., Correa P., Powell I. — Cancer Incidence in Five Continents, vol. III, Lyon, IARC Sci. Publ., Nr. 15, 1976
- RÎMNEANȚU P. — *Cancerul (Cluj)*, 1935, III, 1, 101—106
- RÎMNEANȚU P. — *Cancerul (Cluj)*, 1936, IV, 1, 1—10
- SEGI M. — Cancer Mortality for Selected sites in 24 Countries No. 5 (1964—65). Sendai, Japan, 1969
- SEGI M. — Age-adjusted death rates for cancer for selected sites (A — Classification) in 43 Countries in 1970, Nagoya-Japan, 1975
- SEGI M. — Age-adjusted death rates for cancer for selected sites (A — Classification) in 43 Countries in 1971, Nagoya-Japan, 1976
- SEGI M. — Age — adjusted death rates for cancer for selected sites (A — Classification) in 51 Countries in 1974, Nagoya-Japan, 1979
- SEGI M. — Age-adjusted death rates for cancer for selected sites (A — Classification) in 16 Countries in 1975, Nagoya-Japan, 1980
- SEGI M. — Age-adjusted death rates for cancer for selected sites (A — Classification) in 40 Countries in 1976, Nagoya-Japan, 1981
- * * * — Segi Institute of Cancer Epidemiology — Age-adjusted death rates for cancer for selected sites (A — Classification) in 43 Countries in 1977, Nagoya-Japan, 1982
- TRESTIOREANU AL., COBAN AL., NICOLAU DARIA, URSULEANU NINA, GEORGESCU M. — Situația cancerului în România, Raport la Comisia spec. cancer. Min. Sănăt. București, 1980
- * * * WHO — Bibliography on the Epidemiology of Cancer, 1946—1960, Geneva, 1963
- * * * WHO — World Health Statistics Annual Geneva, 1980
- * * * — R.S.R. — Comisia Națională de Demografie — Populația României, Editura Meridiane, București, 1974

//.

Genetica și morfologia cancerelor umane

3.

Genetica cancerului uman

C. D. OLINICI

Cuprins

- 3.1. Introducere — 102
- 3.2. Ipoteza mutației somatice — 102
- 3.3. Date generale asupra rolului factorilor genetici în etiologia cancerului — 104
 - 3.3.1. Istoric — 104
 - 3.3.2. Cercetări experimentale — 104
- 3.4. Probleme ridicate de genetica cancerului uman — 105
- 3.5. Modificări cromozomiale în cancer — 106
 - 3.5.1. Introducere — 106
 - 3.5.2. Cariotipul uman normal — 107
 - 3.5.3. Anomalii cromozomiale — 111
 - 3.5.3.1. Anomalii numerice — 111
 - 3.5.3.2. Anomalii structurale — 111
 - 3.5.4. Anomalii cromozomiale în leucemiile și limfoamele maligne umane — 113
 - 3.5.4.1. Leucemia mieloidă cronică — 113
 - 3.5.4.2. Leucemia limfocitară cronică — 115
 - 3.5.4.3. Leucemia acută mieloblastică — 115
 - 3.5.4.4. Leucemia acută limfoblastică — 116
 - 3.5.4.5. Policitemia vera — 117
 - 3.5.4.6. Boli mieloproliferative — 117
 - 3.5.4.7. Gamopatii monoclonale — 117
 - 3.5.4.8. Limfoame — 117
 - 3.5.5. Anomalii cromozomiale în tumorile umane — 118
 - 3.5.5.1. Tumori benigne — 118
 - 3.5.5.1.1. Meningioamele — 118
 - 3.5.5.1.2. Tumorile mixte ale glandelor salivare — 118
 - 3.5.5.1.3. Polipii colonului — 119
 - 3.5.5.2. Tumori maligne — 119
 - 3.5.5.2.1. Retinoblastoamele — 119
 - 3.5.5.2.2. Asocierea dintre tumoarea Wilms și aniridia bilaterală — 119
 - 3.5.5.2.3. Alte tumori umane — 119
 - 3.5.6. Anomalii cromozomiale în tumorile experimentale — 120
 - 3.5.6.1. Leucemiile murine — 120
 - 3.5.6.2. Tumorile șobolanilor — 121
 - 3.5.7. Discuții — 121
 - 3.5.7.1. Semnificația modificărilor cromozomiale — 121
 - 3.5.7.2. Relația dintre natura agentului cancerigen și tipul anomaliilor cromozomiale — 124
 - 3.5.7.3. Modificări cromozomiale particulare anumitor țesuturi — 125

- 3.5.8. Concluzii — 125
- 3.6. Sindroame genetice asociate cu cancerul — 126
 - 3.6.1. Anomalii cromozomiale — 126
 - 3.6.2. Boli mutagene — 127
 - 3.6.3. Bolile caracterizate prin imunodeficiență — 129
- 3.7. Tumorile ereditare — 130
 - 3.7.1. Tumorile embrionare — 130
 - 3.7.2. Tumorile endocrine — 131
 - 3.7.2.1. Sindroame de adenomatoză endocrină multiplă — 131
 - 3.7.2.2. Adenoamele paratiroidiene — 132
 - 3.7.2.3. Feocromocitoamele — 132
 - 3.7.3. Tumorile pielii — 132
 - 3.7.4. Cancerul mamar — 133
 - 3.7.5. Cancerele tubului digestiv — 133
 - 3.7.6. Sindromul cancerelor familiale — 135
 - 3.7.6. Cancerele genito-urinare — 135
 - 3.7.8. Cancerul pulmonar — 136
 - 3.7.9. Tumorile nervoase — 136
 - 3.7.10. Leucemiile, limfoamele și mielomul multiplu — 137
- 3.8. Mutațiile și cancerul — 137

3.1.

Introducere

În decursul timpului au fost propuse numeroase ipoteze pentru a explica natura evenimentului care transformă o celulă normală într-o celulă canceroasă. Conform *ipotezei mutației somatice*, cancerul ar fi indus de o alterare a aparatului genetic al unei celule somatice, rezultată fie dintr-o mutație genică, fie dintr-un complex cromozomial anormal. Această alterare poate fi inițiată de o varietate de factori fizici, chimici sau virotici. Transformarea ar putea fi facilitată de o *alterare a aparatului genetic al celulelor germinale*, care determină o creștere a susceptibilității pentru cancer la zigoții care moștenesc acest material genetic modificat.

3.2.

Ipoteza mutației somatice

Ipoteza mutației somatice nu este nouă. Primele indicații asupra rolului posibil al modificărilor somatice în etiologia cancerului reies din lucrarea „Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren”, publicată de Th. Bovari în anul 1914, în care se susținea că aberațiile cromozomiale reprezintă evenimente primare în procesul carcinogenezei. Cel care a formulat însă clar concepția mutației somatice drept cauză a cancerului a fost Tyzzer, care în anul 1916 scria:

„Există diferențe marcate în comportamentul diferitelor tumori de transplant la diferite linii de șoareci. Chiar tumorile care iau naștere la linii omogene prezintă asemenea diferențe, care pot fi atribuite achiziționării unor caracteristici noi de către somă, în decursul dezvoltării tumorii.

În raport cu comportamentul acestor caracteristici în decursul transplantărilor, tumoarea poate fi privită ca o modificare a țesutului somatic, care poate fi denumită *mutație somatică*.”

În sprijinul ipotezei mutației somatice pledează următoarele categorii de argumente:

a) Majoritatea cancerelor prezintă anomalii cromozomiale, deși iau naștere la persoane ale căror celule necanceroase au cariotipuri normale.

Această constatare, fundamentată pe nenumărate cercetări, ridică însă două întrebări la care vom încerca să răspundem în unul din capitolele următoare: 1) sînt toate cancerele anormale din punct de vedere cromozomial? și 2) modificările cromozomiale sînt cauza sau rezultatul transformării unei celule normale într-o celulă canceroasă?

b) Aproape toți cancerigenii studiați s-au dovedit a fi mutageni pentru bacterii (*Salmonella typhi* murium, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*), levuri (*Saccharomyces cerevisiae*) sau fungi (*Neurospora crassa*, *Aspergillus nidulans*).

c) Probabilitatea apariției cancerului este, atît în condiții experimentale, cît și la om, proporțională cu intensitatea expunerii la agentul cancerigen multiplicată cu durata expunerii.

d) Într-o gamă largă de tumori apar neoantigene, antigene de tip embrionar sau tulburări metabolice, ca expresie fenotipică a unei mutații a genelor structurale sau reglatoare.

e) Celulele canceroase pot fi transplantate seriat pe gazde uniforme din punct de vedere genetic, menținîndu-și trăsăturile caracteristice.

O consecință majoră a ipotezei mutației somatice este faptul că tumorile individuale ar trebui să derive din celule maligne unice. Faptul că cel puțin marea majoritate a cancerelor umane sînt consecința proliferării unei celule maligne unice a fost demonstrat recent, prin utilizarea a două tehnici ingenioase:

(a) Majoritatea tumorilor umane prezintă, după cum am văzut, anomalii cromozomiale. Aceste modificări, inconstante de la un caz la altul, sînt însă extrem de asemănătoare în celulele aceleiași tumori. Se pare, deci, că deși agentul cancerigen afectează un număr mare de celule, tumoarea macroscopică ce se dezvoltă în cele din urmă este alcătuită din descendențele unei celule unice (2). Chiar atunci cînd între celulele unei tumori există deosebiri cromozomiale, se pot totuși evidenția trăsături comune (de exemplu, cromozomi markeri identici), care demonstrează relația dintre ele. Asemenea linii celulare colaterale se dezvoltă, de altfel în mod continuu, reprezentînd procesul de evoluție clonală. Variantele celulare noi, a căror apariție este condiționată de instabilitatea genetică a celulelor tumorale, sînt selecționate ca urmare a presiunii condițiilor de mediu. Unele variante mor, ca urmare a dezavantajelor metabolice sau imunologice. Altele, dotate cu avantaje selective, proliferază. Acest proces microevoluționar diferă de la o tumoare la alta și determină, în cele din urmă, un polimorfism cromozomial aparent. Paralel cu etapele evoluției genetice au loc și modificări ale caracteristicilor biologice ale tumorilor, de exemplu pierderea diferențierii morfologice și metabolice.

(b) Un alt mod de abordare este reprezentat de studiul tumorilor care iau naștere la persoane cu două sau mai multe tipuri de celule deosebite din punct de vedere genetic, adică la subiecți care prezintă un mozaicism celular. În această categorie sînt incluse femeile, care au două tipuri celulare datorită inactivării fixată genetic a unuia din cei doi cromozomi X, proces care are loc precoce în embriogeneză, în fiecare celulă somatică.

Zigotul de sex feminin primește un cromozom X de la tată (X^P) și un altul de la mamă (X^M). Într-o anumită etapă a embriogenezei, unul din cromozomii X este inactivat (și va alcătui particula de cromatină sexuală), celălalt rămînînd activ. Alegerea inițială este întîmplătoare, astfel încît în unele celule este inactivat cromozomul X de origine paternă (X^P), iar în altele cromozomul X de origine maternă (X^M). O dată ce decizia asupra inactivării a fost luată, ea rămîne însă fixată nu numai pentru celulele initiale, ci și pentru toate descendențele lor. Femeia adultă este astfel un mozaic alcătuit din două tipuri de celule, unele cu cromozomul X^M activ, altele cu cromozomul X^P activ (13). Acest tip de inactivare a fost demonstrat în cazul mai multor loci situați pe cromozomul X, de exemplu glucozo-6-fosfat dehidrogenaza (G-6-PD). Sistemul G-6-PD prezintă 4 alele relativ comune (GdA, GdA⁻, GdB și GdB⁻) și peste 20 mai rare. Variațiile enzimactice ale sistemului G-6-PD pot fi recunoscute electroforetic. La persoanele homozigote, care prezintă pe ambii cromozomi X aceeași genă (de exemplu GdA) se evidențiază o singură enzimă. Persoanele heterozigote, care moștenesc de la unul din părinți un cromozom X purtător al alelei GdA, iar de la celălalt paren-

tal un cromozom X purtător al alelei GdB, prezintă ambele tipuri enzimatic. Analiza electroforetică a G-6-PD dintr-un extract de fibroblaste cutanate cultivate de la un subiect heterozigot arată prezența ambelor tipuri de enzime. Dacă însă din aceste amestecuri de celule se prelevează celule unice care sînt cultivate sub formă de clone (înțelegem prin clonă o populație de celule derivate dintr-o singură celulă), în fiecare clonă va fi găsit un singur tip enzimatic. În mod similar, tumorile care iau naștere dintr-o singură celulă ar trebui să prezinte un singur tip enzimatic, în timp ce tumorile cu origine multicelulară ar trebui să conțină ambele enzime.

Numeroase cercetări, sistematizate recent de Gartler (16), au confirmat faptul că majoritatea tumorilor investigate (leiomiom, leucemie granulocitară cronică, limfom Burkitt, lipom, mielom, limfosarcom, teratom ovarian, melanom, neuroblastom, veruci) au o origine unicelulară.

Compoziția unor tumori ereditare (tricho-epiteliomul ereditar și neurofibromatoza multiplă) este însă compatibilă cu o origine multicelulară. Asupra semnificației acestei constatări vom mai reveni.

Dacă acceptăm ideea potrivit căreia cancerul este rezultatul interacțiunii dintre un agent cancerigen și celule, deci al unei mutații somatice, așa cum o demonstrează toate datele prezentate, cum putem explica tumorile ereditare? Și care este relația dintre mutațiile germinale și cele somatice în originea cancerului?

3.3.

Date generale asupra rolului factorilor genetici în etiologia cancerului

3.3.1.

Istoric

Încă în anul 100, un medic roman a menționat, ca o curiozitate, frecvența crescută a cancerului mamar în familia unuia din pacienții săi.

Familia lui Napoleon a fost secerată, ca de o adevărată fatalitate, de cancerul gastric (11). În anul 1666, renumitul chirurg francez Broca a raportat incidența crescută a cancerului mamar în familia soției sale și a presupus intervenția unor factori ereditari. În plus, el a întrevăzut posibilitatea unei diateze canceroase generale, deoarece în această familie exista și o frecvență crescută a cancerelor cu alte localizări anatomice.

Valoarea observațiilor mai vechi este însă limitată din două motive majore: lipsa unor investigații controlate statistic; problema mai generală a acurateții diagnosticului în cancer.

3.3.2.

Cercetări experimentale

Studiile de genetică oncologică umană au fost stimulate de investigații asupra animalelor de laborator, care au arătat frecvența crescută a neoplasmelor la anumite grupe de animale, în opoziție cu frecvența scăzută la alte animale din aceeași specie. Cercetări ulterioare au relevat lipsa de contagiozitate a cancerului și au sugerat că anumite cancere sînt influențate de ereditate. Ulterior, după ce au fost dezvoltate stocuri omogene (linii pure) de animale, s-a demonstrat că unele tipuri specifice de tumori sînt moștenite în cadrul anumitor

linii de animale. Există acum peste 70 de linii de șoareci homozigoți, din care menționăm: linia BALB/c, care dezvoltă o incidență înaltă de tumori pulmonare și leucemii limfatice; linia C57B1, o linie rezistentă, în care se dezvoltă puține tumori mamare și pulmonare; linia C3H, la care survine o incidență înaltă a tumorilor mamare și a hepatoamelor.

Studiile de genetică a cancerului la nivel infrauman prezintă avantajul unor experimentări controlate. Astfel, dezvoltarea unor linii pure de animale a făcut posibilă evaluarea genotipului gazdei cu un grad înalt de precizie. Pe de altă parte, administrarea pe o cale controlată a unor doze precis determinate de carcinogeni a permis evaluarea rolului factorilor de mediu. Astfel, în experiențe judicioasă planuite, se poate evalua rolul relativ al factorilor genetici și al mediului în carcinogeneză.

La oameni problema este însă mult mai complexă. Astfel, la anumite animale, radiațiile induc în mod invariabil leucemii, iar carcinogenii chimici (metilcolantren, uretan, dimetilbenzantracen etc.) cancere. Însă în cazul unor asemenea expuneri la agenți carcinogeni, rolul factorilor care depind de gazdă nu poate fi elucidat, gazda fiind realmente „copleșită” de doza masivă de carcinogen. Pe de altă parte, anumite linii pure de animale manifestă o susceptibilitate genetică extremă la apariția cancerului; în acest caz, evaluarea importanței relative a factorilor negenetici devine dificilă, dacă nu chiar imposibilă.

În fața acestor considerații, se poate generaliza că orice varietate de neoplasm, indiferent de specia la care se dezvoltă, se află, într-un anumit grad, sub influența genelor. Factorii genetici au o importanță crucială chiar atunci când sînt implicați factori negenetici, cum ar fi carcinogenii fizici, chimici sau virurile oncogene, deoarece genotipul organismului controlează răspunsul celulei față de carcinogen și determină tipul de țesut în care va surveni răspunsul.

3.4.

Probleme ridicate de genetica cancerului uman

Studiul factorilor genetici care intervin în etiologia cancerului uman implică combinarea epidemiologiei cu genetica umană. În acest scop se colectează date referitoare la variatele tipuri de asocieri statistice între diferitele boli, între o boală și caracteristicile unui individ sau între boli și caracteristicile unei familii. În comparație cu genetica cancerului experimental, *genetica cancerului uman ridică însă numeroase probleme care, împreună generează o confuzie considerabilă și controverse multiple* (30):

a) Homo sapiens este o specie heterogenă, astfel încît concluziile experiențelor efectuate pe linii pure de animale nu pot fi transpuse decît cu extremă precauție.

b) Dificultățile întîlnite în studiul cancerului uman sînt accentuate de intervenția unor probleme emoționale, multe din ele corelate cu diferențele sociale și culturale, altele la nivel personal, mai ales frica față de cancer.

c) Verificarea anatomo-patologică este obligatorie pentru aprecierea pre-dilecției cancerului pentru anumite localizări anatomice atît la bolnavi, cît și la rudele lor. Cancerul poate însă metastaza la distanță, mascînd sediul original și punînd probleme de diagnostic dacă nu se execută o evaluare patologică meticuloasă.

d) Debutul de obicei tardiv al cancerului poate de asemenea masca expresia sa în diferitele familii, deoarece persoane cu risc genetic față de această boală pot sucomba la o vîrstă mai tîrîă din cauza altor boli decît cancerul.

e) Foile de observație clinică și certificatele de deces sînt adesea incomplete sau incorecte.

f) Diferitele familii au nu numai un fond genetic comun (care include factori rasiali, istoricul familiei și gradul de consangvinitate), ci și condiții comune de viață. Ultimele includ radiațiile X, radiațiile actinice, anomaliile în compoziția solului, caracteristicile animale și florale ale zonei, particularitățile sociale, economice și psihologice ale locuitorilor, fumatul și consumul băuturilor alcoolice, ocupația — cu un plus de atenție față de expunerile la carcinogenii specifici din unele industrii. În sfîrșit, practicile religioase sau rituale, de exemplu circumcizia, pot juca un rol important în etiologia unor cancere, cum ar fi cancerul colului uterin și al penisului.

Abordarea eclectică a studiului carcinogenezei la om a confirmat *distribuția neomogenă a cancerului în diferitele populații*. Astfel, studiul incidenței cancerului la muncitorii din minele de aur din Africa de Sud a demonstrat că cele mai frecvente tipuri sînt cancerul hepatic, esofagian, al aparatului respirator și al vezicii urinare. Analiza critică a factorilor specifici geografici și tribali a arătat însă că la populația din Mozambic este mai frecvent cancerul hepatic și al vezicii urinare, la populația Khosas din Transkei cancerul esofagian, iar la populația din Natal, și predominant la Zulu, cancerul aparatului respirator. Aceste observații sugerează că variațiile în incidența cancerului depind, într-un anumit mod, de interacțiunea complexă dintre factorii genetici comuni membrilor unui anumit trib și factorii de mediu (30).

În mod similar, deși scade la japonezii imigrați în SUA, incidența cancerului gastric nu atinge nivelul observat la americani, ceea ce sugerează intervenția unor factori genetici la această populație. În schimb, incidența cancerului de colon crește pînă la valori comparabile cu cele observate la americani, ceea ce arată că în cazul acestei localizări factorii de mediu (alimentația) joacă un rol predominant. Incidența cancerului mamar rămîne relativ scăzută și la japonezele imigrate în SUA, subliniind rolul factorilor genetici în etiologia acestei forme de cancer (25).

3.5.

Modificări cromozomiale în cancer

3.5.1.

Introducere

Numeroase cercetări efectuate atît în perioada anterioară bandării cromozomilor, cît și după introducerea acestei tehnici, au fost dedicate constituției cromozomiale a tumorilor umane. Scopul acestor investigații a fost verificarea ipotezei lui Boveri, conform căreia cancerul ar fi consecința unui dezechilibru cromozomial. Concluzia investigațiilor efectuate pînă în prezent este că în celulele tumorale există atît modificări cromozomiale numerice, cît și anomalii structurale. Mai mult decît atît, în numeroase tipuri de leucemii și tumori a

fost evidențiată prezența unor modificări specifice. Cu toate acestea, disputele continuă, deoarece modificările cromozomiale specifice din unele tumori ar putea sau nu să reprezinte evenimentul care inițiază transformarea unei celule normale într-o celulă neoplazică. Cu alte cuvinte, modificările cromozomiale ar putea să joace un rol declanșator sau ar putea să survină ca un rezultat al transformării neoplazice (3, 40, 52).

3.5.2.

Cariotipul uman normal

Celulele somatice umane conțin 46 de cromozomi. Cei 46 de cromozomi sînt dispuși în 23 de perechi, 22 de perechi reprezentînd autozomii, iar o pereche (X, X la femei sau X, Y la bărbat) alcătuiind cromozomii sexuali (fig. 3.1).

Cromozomii metafazici sînt alcătuiți din două *cromatide* dispuse paralel și unite numai la nivelul *centromerului*. Prezența centromerului împarte cromozomul în două brațe: brațul scurt (p) și brațul lung (q). Cînd centromerul este situat la mijlocul cromozomului, pe care îl împarte în două brațe egale, cromozomul este denumit *metacentric*. Cromozomii cu centromerul situat în vecinătatea punctului median sînt denumiți *submetacentrici*, iar cei cu centromerul situat în regiunea subterminală, *subtelocentrici*. Cromozomii *acrocentrici* au centromerul aproape de terminație, iar cromozomii *telocentrici* au centromerul terminal (fig. 3.2).

Fig. 3.2. — Reprezentare schematică a principalelor tipuri de cromozomi: (a) cromozom metacentric; (b) cromozom submetacentric; (c) cromozom subtelocentric; (d) cromozom acrocentric; (e) cromozom telocentric; (f) cromozom submetacentric cu construcții secundare; (g) cromozom acrocentric cu sateliți.

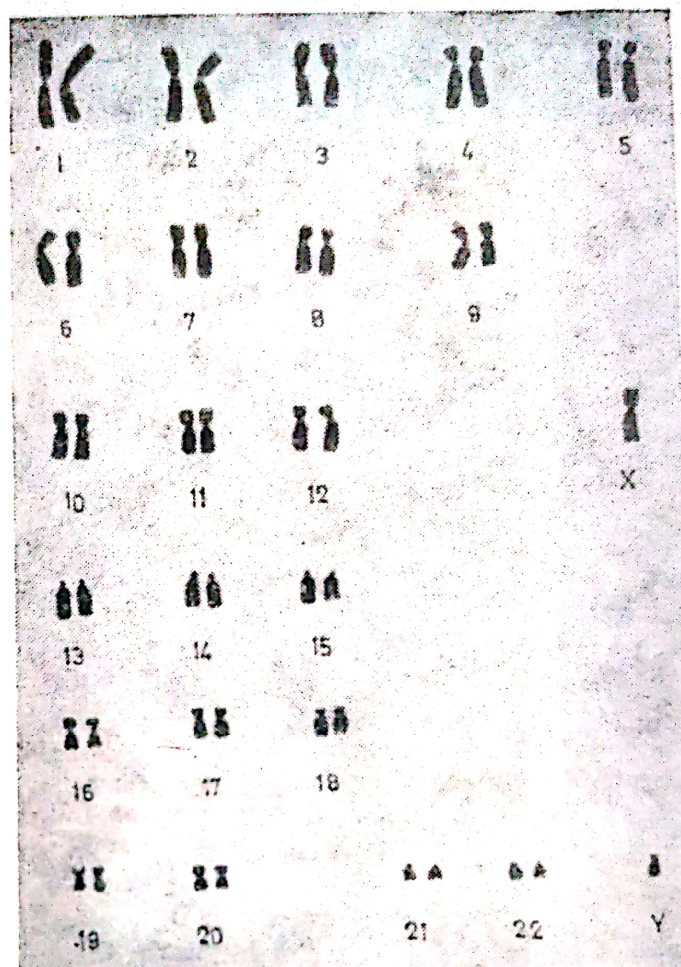
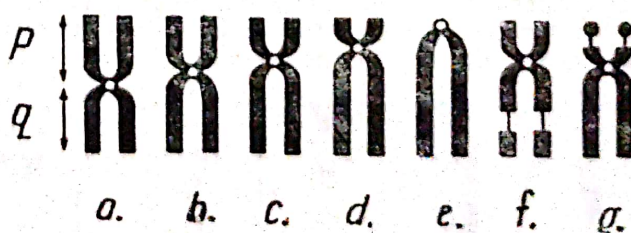


Fig. 3.1. — Cariotip masculin normal.



În ultimul deceniu au fost introduse diferite *tehnici de bandare a cromozomilor* (G, R, Q, C), a căror trăsătură comună este reprezentată de producerea unei succesiuni de benzi clare și întunecate de-a lungul cromozomilor. Modelul de bandare dat de aceste tehnici este identic, cu excepția benzilor C,

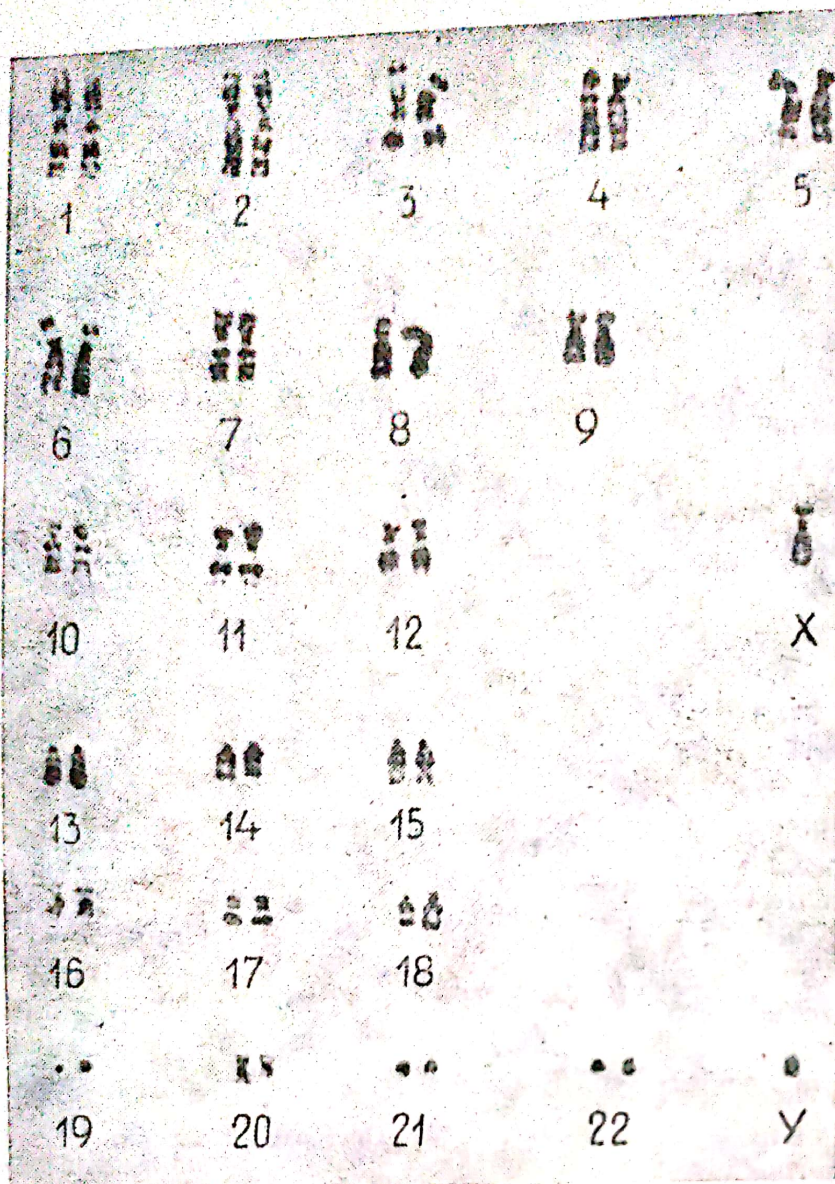


Fig. 3.3. — Cariotip uman cu benzi G.

care evidențiază regiunile heterocromatice. Cu ajutorul metodelor de bandare este posibilă identificarea neechivocă a fiecărui cromozom, precum și a segmentelor sale componente.

Benzile G sînt obținute prin extragerea unor proteine cromozomiale, prin diferite metode (incubare în soluții tampon la temperatura de 60–65°C, tratare cu tripsină etc.), urmată de colorarea cu soluție Giemsa. Fig. 3.3 prezintă un cariotip standard cu benzi G.

În cazul *bandării Q* se utilizează coloranții care se leagă de ADN cromozomial și devin fluorescenți în cazul examinării cu lumină ultravioletă. Colorantul cel mai frecvent utilizat este quinaerina muștar, dar gama produșilor disponibili a devenit mult mai largă. Modelul de bandare Q, constînd dintr-o succesiune de benzi transversale fluorescențe și întunecate, este identic cu modelul de bandare G (Fig. 3.4).

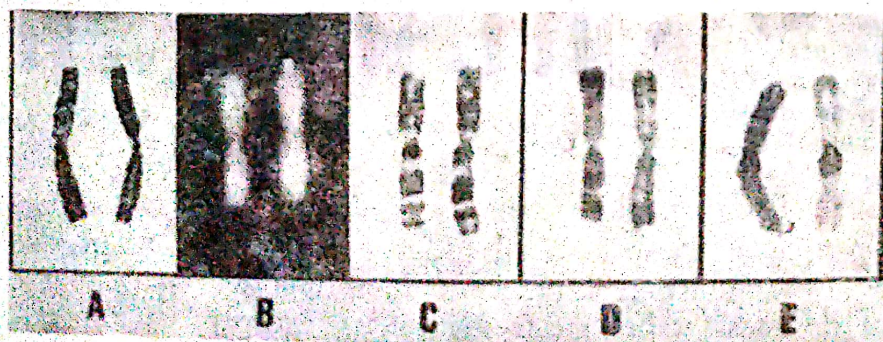


Fig. 3.4. — Montaj în care sînt reprezentați cromozomii nr. 1.

A — Colorație Giemsa clasică; B — Benzi Q; C — Benzi G; D Benzi R; E — Benzi C.

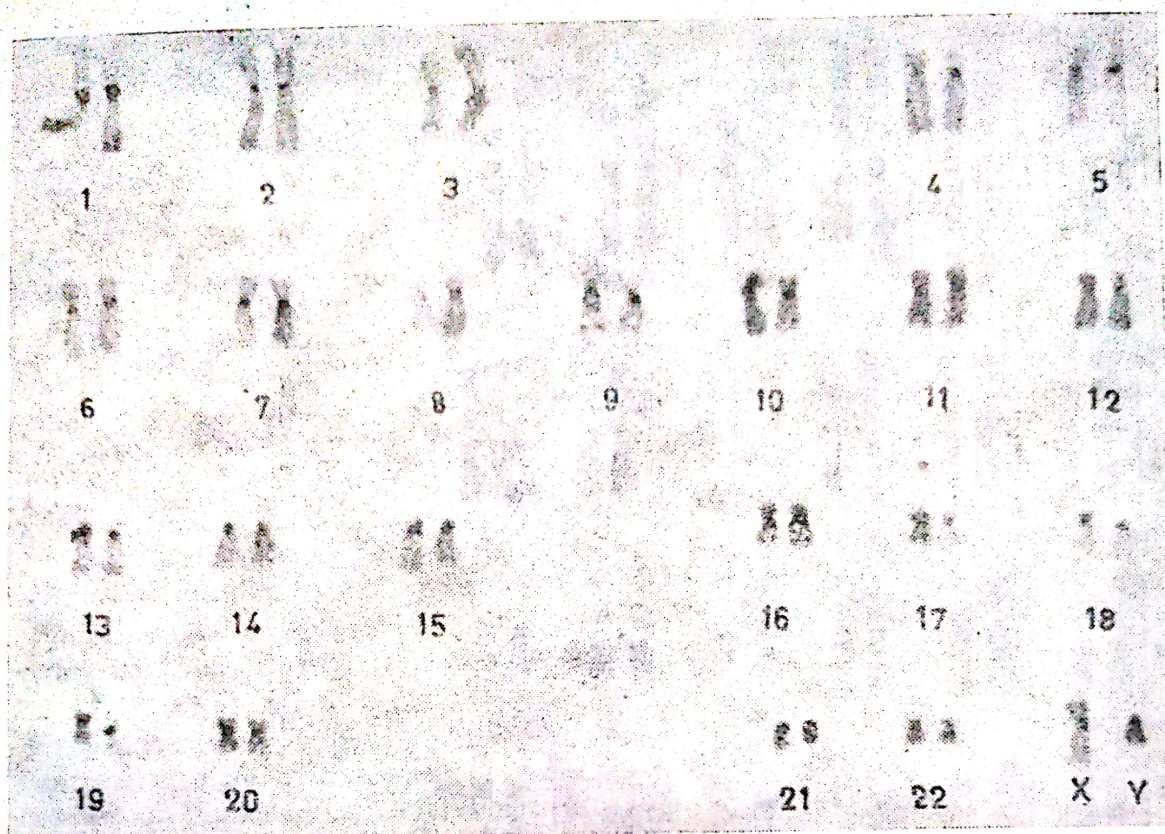


Fig. 3.5. — Cariotip uman cu benzi C.

Benzi *R* sînt obținute prin tratarea preparatelor cromozomiale la o temperatură superioară celei utilizate pentru evidențierea benzilor *G* (86°C–87°C). Ele au o dispoziție inversă „revers bands”) față de a benzilor *G*, în sensul că benzile intens colorate pe preparatele *R* corespund unor benzi *G* palide și invers (fig. 3.4).

Tehnica *C* nu produce benzi clare și întinse de-a lungul cromozomilor, ci colorează heterocromatina, mai evidentă la centromerele cromozomilor 9, 1 și 16 (fig. 3.5).

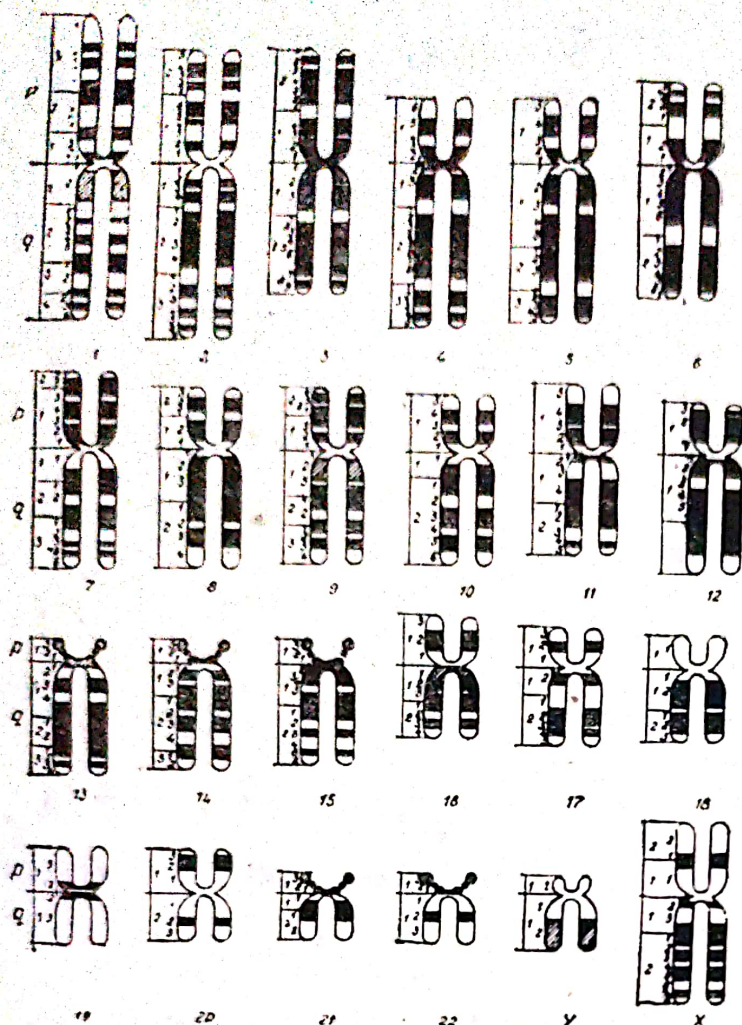
Celelalte metode de bandare *T*, Giemsa 11, 5-Me-C, NOR, precum și tehnicile bazate pe incorporarea BrDU au domenii de aplicabilitate mai reduse, iar prezentarea lor ar depăși cadrul acestei expunerii.

Utilizarea pe scară largă a tehnicilor de bandare în citogenetică a impus adoptarea unui sistem unitar de nomenclatură a cromozomilor. Conform sistemului de nomenclatură adoptat la Paris și prezentat în fig. 3.6, fiecare cromozom uman constă dintr-o serie continuă de benzi. Prin bandă cromozomială se înțelege o parte a unui cromozom, care se deosebește de segmentele adiacente printr-o colorație mai intensă sau mai palidă. Jaloanele cromozomiale sînt definite ca trăsături morfologice constante și distinctive, importante pentru identificarea cromozomilor. Aceste jaloane sînt reprezentate de terminațiile brațelor cromozomiale, centromere și anumite benzi. Regiunile sînt arii cromozomiale, dispuse între două jaloane adiacente. Atît regiunile, cît și benzile sînt numerotate dinspre centromer spre extremitățile brațelor cromozomilor.

Pentru a desemna o anumită bandă, se menționează în ordine numărul cromozomului, simbolul brațului, numărul regiunii și numărul benzii din regiune. De exemplu, 1q25 indică cromozomul 1, brațul lung, regiunea 2, banda 5.

Pentru a facilita înțelegerea noțiunilor care vor fi expuse, este necesară prezentarea semnificației principalelor simboluri utilizate în citogenetică.

Fig. 3.6. — Sistemul de nomenclatură a benzilor adoptat la Paris.



Brațul scurt al unui cromozom este desemnat cu litera „p”, iar brațul lung cu litera „q”. Creșterea sau scăderea lungimii brațului unui cromozom sînt menționate plasînd semnalul plus (+) sau minus (–) în funcție de simbolul care desemnează brațul cromozomial implicat; de exemplu:

46, XX, 2q+ = femeie, cu 46 de cromozomi cu o creștere a dimensiunii brațului lung al unui cromozom nr. 2;

46, XX, 20p– = femeie, cu 46 de cromozomi, cu o scădere a dimensiunii brațului scurt al unui cromozom nr. 20.

Cromozomii inelari se notează cu litera „r” plasată înaintea cromozomului implicat; de exemplu:

46, XX, r (18) = femeie, cu 46 cromozomi, care prezintă un cromozom inelar nr. 18.

Izocromozomii se desemnează cu litera „i” plasată înaintea brațului cromozomial implicat; de exemplu:

46, X, i (Xq) = femeie, cu 46 de cromozomi, incluzînd un cromozom normal și un izocromozom pentru brațul lung al unui cromozom X.

Cromozomii dicentrice și tricentrice sînt desemnați cu prescurtările „dic” și „tri”; de exemplu:

46, X, dic (Y) = bărbat, cu 46 de cromozomi, incluzînd un cromozom X și un cromozom Y dicentric.

Translocațiile sînt desemnate plasînd litera „t” înaintea cromozomilor implicați. Astfel, formula 46, XX, t (4p–; 13q+) indică o translocție reciprocă echilibrată între brațul scurt al unui cromozom nr. 4 (care este scurtat) și brațul lung al unui cromozom nr. 13 (care este alungit).

Translocațiile robertsoniene (fuziunile centrice) sînt desemnate menționînd cromozomii implicați de exemplu:

46, XX, t (13q; 15q). În acest tip de translocție, simbolul „t” poate fi înlocuit cu simbolul „rob”: rob (13q; 15q).

Cromozomii a căror origine nu poate fi identificată sînt denumiți *markeri* și se notează „mar”.

3.5.3.

Anomalii cromozomiale

În celulele neoplazice pot fi observate anomalii cromozomiale numerice și structurale.

3.5.3.1.

Anomalii numerice

Cei 46 de cromozomi prezenți în celulele umane normale reprezintă numărul diploid ($2n$). Termenul de *haploid* se referă la numărul de cromozomi prezenți în gameți (n), în care are loc o înjumătățire a numărului de cromozomi față de cel existent în celulele somatice.

Atunci când numerele de cromozomi din celule reprezintă multipli exacti ai numărului de bază haploid (n), se vorbește despre *euploidie*. Celulele cu n , $2n$, $3n$, $4n$, $5n$, etc. cromozomi sînt euploide (respectiv haploide, diploide, triploide, tetraploide, pentaploide etc.).

Numerele *aneuploide* de cromozomi nu corespund multiplilor exacti ai numărului haploid (n), de exemplu $2n+1$, $2n+2$, $4n+1$, $4n+2$ etc.

Prefixul de hiper- sau de hipo- indică un număr de cromozomi avînd o deviație redusă în raport cu numărul diploid. În categoria *hipodiploidiei* sînt cuprinse celulele monosomice ($2n-1$), în care un membru al unei perechi de cromozomi lipsește. Celulele *hiperdiploide* sînt mai adesea trisomice ($2n+1$), cînd în locul unei perechi există trei cromozomi omologi.

Termenul de *mozaicism cromozomial* sau *mixoploidie* se referă la situațiile în care coexistă două sau mai multe populații celulare diferite.

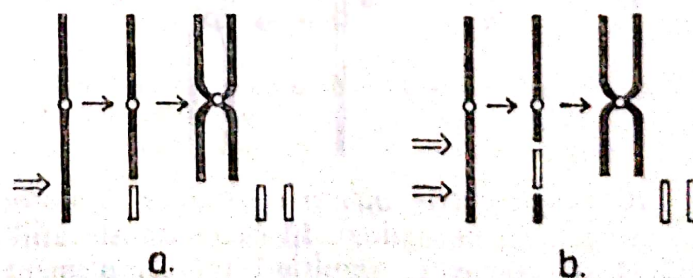
3.5.3.2.

Anomalii structurale

Rearanjamentele structurale ale cromozomilor sînt consecința *rupturilor cromozomiale*. În cele ce urmează, vom defini acele anomalii structurale care sînt mai frecvent întîlnite în celulele tumorale.

Astfel, *deleția* constă în eliminarea unei porțiuni dintr-un cromozom. Prezența unei singure rupturi determină apariția unei deleții terminale. De-

Fig. 3.7. — Mecanismul de apariție a deleției terminale (a) și interstițiale (b).



lețiile interstițiale necesită existența a două rupturi, cu eliminarea segmentului intermediar (fig. 3.7).

Cromozomii *inelari* sînt consecința existenței a două rupturi localizate la terminațiile celor două brațe ale cromozomului. Prin reunirea extremități-

lor rupte se formează un cromozom inelar și două fragmente acentrice (lipsite de centromer), care vor fi ulterior pierdute (fig. 3.8).

Inversiile sînt rearanjamente determinate de prezența a două rupturi. Înainte ca procesul de reunire să aibă loc, segmentul dintre cele două puncte

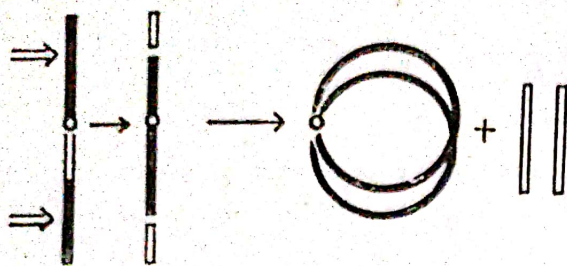


Fig. 3.8. — Mecanismul de apariție a cromozomilor inelari.

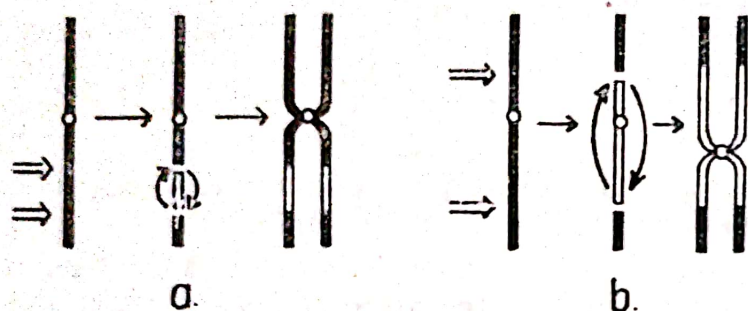


Fig. 3.9. — Mecanismul de apariție a inversiilor paracentrice (a) și pericentrice (b).

de ruptură este rotat cu 180° . Cînd ambele rupturi sînt localizate pe același braț al cromozomului, inversia este denumită paracentrică. Inversiile pericentrice includ și centromerul, deoarece punctele de ruptură sînt localizate de o parte și de cealaltă a centromerului (fig. 3.9).

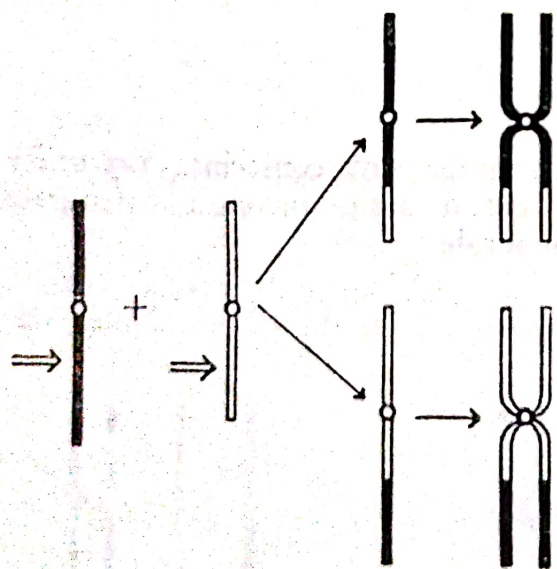


Fig. 3.10. — Mecanismul de apariție a translocației reciproce echilibrate.

Rearanjamentele intercromozomice (translocațiile) implică participarea a doi cromozomi neomologi. În cazul translocațiilor reciproce are loc un schimb mutual de segmente, rezultînd un complement cromozomial echilibrat (fig. 3.10). O altă posibilitate constă în reunirea părților centrice ale celor doi cromozomi, cu formarea unui cromozom dicentric (fig. 3.11). Fuziunea centrică (translocația robertsoniană) este o translocație reciprocă între doi cromozomi acrocentrici. Ea are drept rezultat apariția unui cromozom metacentric (fig. 3.12).

Izocromozomii sînt cromozomi metacentrici ale cărora brațe sînt identice, rezultați în urma diviziunii gre ite, transversale a cromozomului (fig. 3.13). După enun area acestor no iuni preliminare, vom prezenta principalele modificări cromozomiale  nt lnite în bolile maligne.

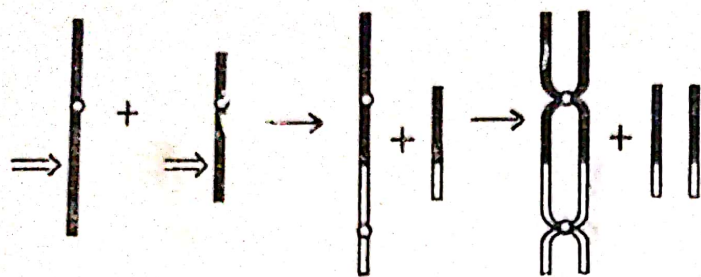


Fig. 3.11. — Mecanismul de formare a cromozomilor dicentrice.

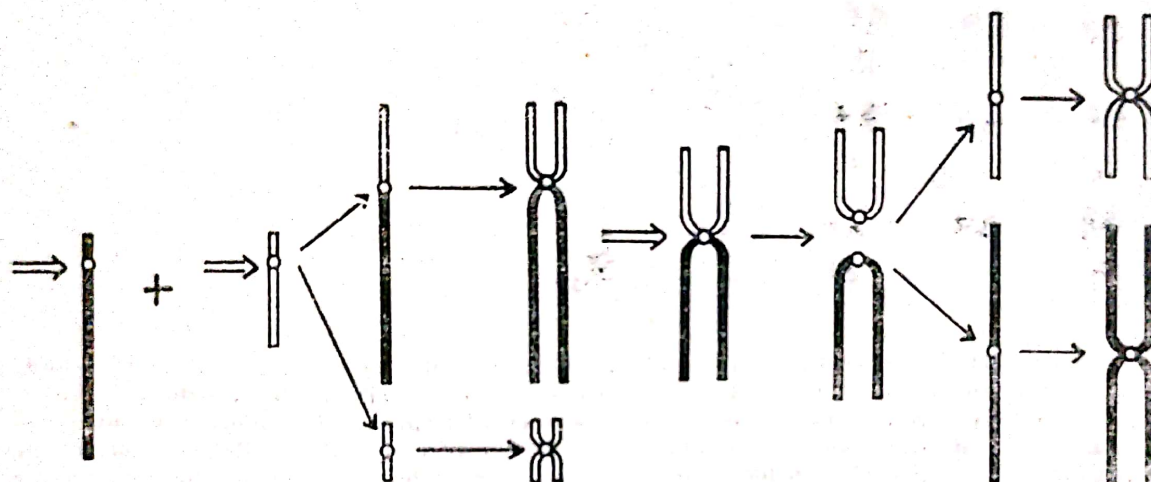


Fig. 3.12. — Mecanismul de apariție a fuziunii centrice (transla ie robertsoniană).

Fig. 3.13. — Mecanismul de formare a izocromozomilor.

3.5.4.

Anomalii cromozomiale în leucemiile  i limfoamele maligne umane

3.5.4.1.

Leucemia mieloidă cronică

Cromozomul Philadelphia sau Ph^1 , descoperit de Nowell  i Hungerford în anul 1960 în celulele sangvine provenite de la doi bolnavi cu leucemie mieloidă cronică, a reprezentat primul defect cromozomial asociat în mod constant cu o afecțiune neoplazică umană (fig. 3.14.). Cercetările efectuate cu ajutorul tehnicilor de bandare au stabilit că cromozomul Ph^1 derivă dintr-un cromozom nr. 22, care a suferit o deleție a brațului său lung ($22q-$). Ulterior, Rowley (48) a precizat că segmentul deta at de pe cromozomul nr. 22 se ata eaz  pe extremitatea brațului lung al unui cromozom nr. 9 ($9q+$), fiind deci vorba, în realitate, nu despre o deleție, ci despre o transla ie aparent echilibrată între bra ele lungi ale cromozomilor nr. 9  i 22: $t(9; 22)$. Conform datelor lui Yunis (71), cromozomul 22 se fracturează constant la nivelul benzii Giemsa negative $q11$; s-ar putea deci ca o secven  specifică de ADN de la locul punctului de fractură a cromozomului nr. 22 să fie responsabilă pentru dezvoltarea  i menținerea procesului neoplazic.

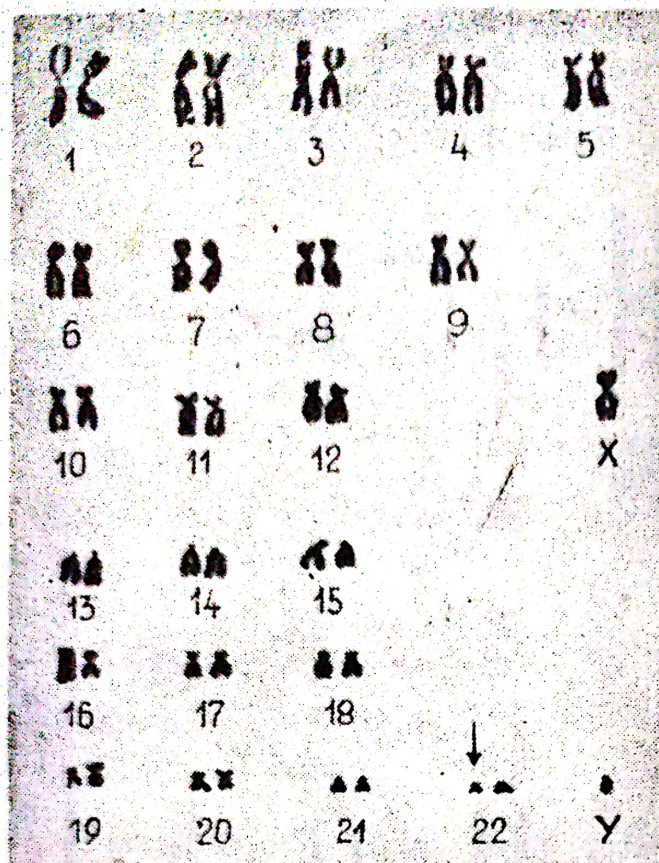


Fig. 3.14 — Cromozom Ph¹ într-un caz de leucemie mieloidă cronică.

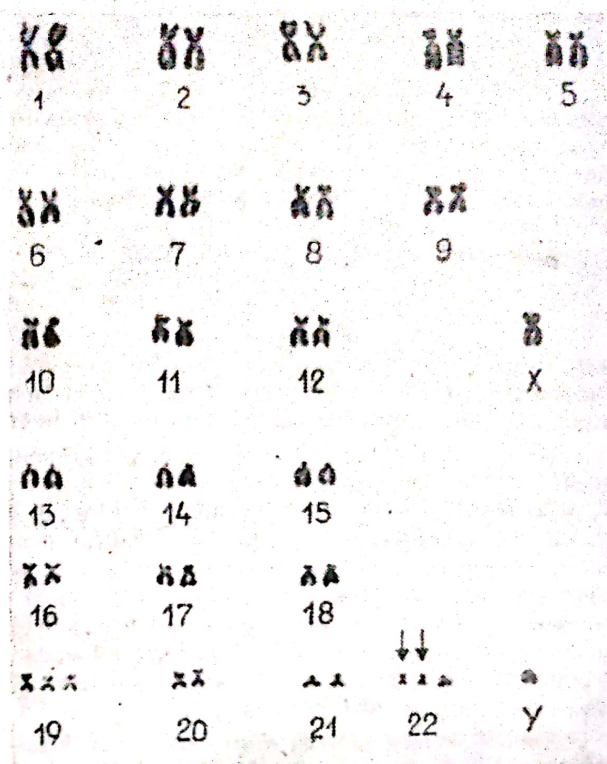
Translocația standard t(9; 22) este observată la 90% din bolnavii cu leucemie mieloidă cronică. În restul de 10% din cazuri, cromozomul 22 este implicat în translocații neobișnuite, cu alți cromozomi. Motivul pentru care segmentul terminal al cromozomului nr. 22 se atașează în mod preferențial de un cromozom nr. 9 nu este cunoscut; cu atât mai neclar este mecanismul de apariție al translocațiilor neobișnuite, mai ales că purtătorii lor nu prezintă particularități clinice distinctive (8, 55).

Cromozomul Ph¹ este prezent în celulele medulare ale bolnavilor, dar nu și în limfocitele stimulate cu P.H.A. sau în fibroblaste; aceasta demonstrează că este vorba despre o anomalie dobândită, datorită unei mutații somatice și nu despre un defect cromozomial constituțional. Mai mult, toate studiile cromozomiale arată că celulele leucemice iau naștere dintr-o singură celulă anormală, având deci o origine clonală.

La bolnavii cu leucemie mieloidă cronică care intră în faza terminală acută apar, în 80% din cazuri, modificări cromozomiale adiționale (43). Aceste aberații secundare sînt, evident, neîntîmplătoare, ele interesînd cu deosebire cromozomul nr. 8 (trisomia cromozomului nr. 8), 17 (trisomia sau formarea unui izocromozom pentru brațul lung al acestui cromozom) și 22 (aparitia unui cromozom Ph¹ suplimentar) (fig. 3.15). Împreună, aceste trei tipuri de aberații răspund pentru 80% din totalul anomaliilor cromozomiale care apar în decursul acutizării leucemiilor mieloidale. Este astfel evidentă existența unor mecanisme care direcționează evoluția cariotipică a majorității cazurilor de leucemie mieloidă pe una din aceste căi majore, dar substratul lor nu este cunoscut. Oricum, detectarea acestor forme de evoluție clonală reprezintă o trăsătură de prognostic nefavorabil, indicînd iminența transformării blastice, pe care o poate precede cu cîteva luni (6, 42, 45).

În aproximativ 10–15% din cazurile de leucemie mieloidă cronică, cromozomul Ph¹ lipsește. Majoritatea acestor bolnavi prezintă un cariotip normal, diploid; alteleori, apar anomalii care interesează, mai adesea, cromozomul nr. 8, de obicei în sensul unei trisomii. Deoarece bolnavii de leucemie mieloidă cronică Ph¹ — negativă prezintă și anumite trăsături particulare hematologice (valori inițiale mai reduse ale numărului de trombocite și leucocite) și clinice (durată mai redusă a supraviețuirii), se sugerează că ei ar reprezenta o entitate nozologică independentă.

Fig. 3.15. — Duplicarea cromozomului Ph^1 într-un caz de leucemie mieloidă cronică în faza de transformare blastică.



3.5.4.2.

Leucemia limfocitară cronică

Majoritatea leucemiilor limfocitare cronice derivă din celulele B. Din acest motiv, în majoritatea publicațiilor mai vechi, bazate pe utilizarea P.H.A. ca mitogen, au fost raportate cariotipuri normale, diploide, deoarece P.H.A. stimulează diviziunea celulelor normale T, fără să influențeze celulele leucemice B. Introducerea recentă a extractelor microbiene ca stimulanti mitotici a demonstrat însă că într-un număr apreciabil de cazuri de leucemie limfocitară cronică apar modificări care interesează în mod preferențial cromozomii nr. 12, 14 și 17 (15).

3.5.4.3.

Leucemia acută mieloblastică

Aproximativ 50% din bolnavii cu leucemie acută mieloblastică prezintă cariotipuri normale în celulele medulare, în timp ce în restul de 50% din cazuri se constată prezența unor anomalii cromozomiale interesind, mai ales, cromozomii nr. 5, 7, 8, 17 și 21 (27). Cromozomul nr. 5 este afectat mai adesea în sensul unei deleții a brațului lung sau a unei monosomii; aceleași anomalii interesează și cromozomul nr. 7. Cromozomul nr. 8 este mai adesea trisomie sau angajat în translocații. Cromozomul nr. 17 este frecvent interesat în translocații sau devine trisomie, uneori formînd un izocromozom pentru brațul lung al cromozomului, iso (17q). În cazul cromozomului nr. 21, monosomiile și trisomiile sînt observate cu o frecvență aproximativ egală; cromozomul 21 este, de asemenea, implicat în diferite translocații (18, 49, 56, 57, 58).

Recent, Yunis (71) a individualizat, pe baza profilului citogenetic, mai multe categorii de leucemii acute mieloblastice:

(a) Primul grup include bolnavi cu translocații între cromozomii 8 și 21. Acești bolnavi se caracterizează din punct de vedere clinic prin debutul la vârste mai tinere, iar din punct de vedere hematologic prin prezența mieloblaștilor cu corpi Auer, a nivelului redus al activității fosfatazei alcaline și a pozitivității marcate a peroxidazelor. Prognosticul ceva mai

favorabil al acestui grup de bolnavi, este explicat, poate, de existența unei tendințe spre maturare a mieloblaștilor, indicată de prezența unui număr semnificativ de promielocite și a neutrofililor de tip Pelger în măduva oaselor.

(b) O a doua varietate, rară, de leucemie acută mieloblastică este leucemia acută promielocitară. O proporție semnificativă (aproximativ 40%) a bolnavilor cu leucemie acută promielocitară prezintă o translocatie între brațele lungi ale cromozomilor 15 și 17, anomalie care nu a fost descrisă în nici un alt tip de leucemie. Bolnavii cu leucemie acută promielocitară au promielocite hipergranulare; uneori prea mici pentru a fi detectate la microscopia optică, aceste granule sînt însă întotdeauna evidente atunci cînd celulele sînt examinate la microscopul electronic. Prognosticul acestor bolnavi este relativ favorabil, însă tendința la coagulare intravasculară impune un tratament cu heparină în decursul inducerii remisiunii.

(c) Un număr restrîns de bolnavi cu leucemie acută mieloblastică (și un număr mai mare de bolnavi cu leucemie acută limfoblastică) au un cromozom Ph^1 , care rezultă dintr-o translocatie standard $t(9; 22)$. Semnificația acestui fenomen va fi discutată ulterior. Din punct de vedere clinic, bolnavii răspund slab la tratament, durata supraviețuirii fiind redusă.

(d) La unii bolnavi a fost observată prezența unor translocații care interesează cromozomul nr. 11. Acest grup, încă insuficient documentat, pare să fi reprezentat cu deosebire de cazurile de leucemie acută mielo-monocitară.

(e) Ultimul grup de bolnavi cu leucemie acută mieloblastică nu prezintă translocații reciproce specifice, ci modificări cromozomiale numerice și structurale variate. Cele mai frecvente anomalii sînt reprezentate de trisomia 8 și de monosomia 7; alte defecte, mai rar observate, constau în monosomia sau deleția parțială a cromozomului 5 și trisomia 21. Recent s-a observat că prezența monosomiei 7 coincide cu un prognostic nefavorabil, la bolnavii cu această anomalie existînd o incidență crescută a febrei și a infecțiilor cronice și valori ridicate ale numărului de leucocite.

Au fost efectuate mai multe încercări de a identifica factorii care influențează prognosticul leucemiilor acute mieloblastice. Sakurai și Sandberg (51) au demonstrat existența unei corelații între compoziția citogenetică a măduvei oaselor și supraviețuire bolnavilor. Bolnavii fără metafaze normale în măduva oaselor au o supraviețuire mai scurtă decît cei la care există un amestec de metafaze anormale și normale sau numai metafaze normale. Aceste cercetări au fost ulterior extinse la leucemiile acute ale copilului, rezultatele obținute fiind asemănătoare.

3.5.4.4.

Leucemia acută limfoblastică

La bolnavii cu leucemie acută limfoblastică a fost remarcată prezența a trei tipuri distincte de translocații: $t(1; 11)$, $t(9; 22)$ și $t(8; 11)$.

(a) Translocatie reciprocă $t(1; 11)$ a fost observată atît la copii cu leucemie congenitală, cît și la adulți. Punctele de ruptură interesează benzile 4q21 și 11q23, cromozomul 11 fiind donor. Prezența anomaliei are un prognostic nefavorabil.

(b) Un număr apreciabil de bolnavi cu leucemie acută limfoblastică sînt Ph^1 -pozitivi, cromozomul Ph^1 fiind rezultatul unei translocații standard $t(9; 22)$. Bolnavii Ph^1 -pozitivi, al căror prognostic este nefavorabil, prezintă trăsături hematologice particulare: ei au un număr inițial de trombocite și leucocite mai mare decît bolnavii din grupul Ph^1 -negativ, iar în unele cazuri se observă prezența bazofiliei sau a unei proliferări mixte limfoide-mieloide. Mai mult, în cazul remisiunii, unele cazuri au dezvoltat trăsături similare cu cele ale leucemiei mieloid cronice.

Prezența cromozomului Ph^1 în leucemiile mieloid cronice, precum și în unele leucemii acute mieloblastice și limfoblastice ridică probleme interesante și încă nerezolvate. Conform ipotezei lui Sandberg și colab. (53), toate leucemiile Ph^1 -pozitive ar aparține unei familii de boli ierudite ca origine celulară, dar avînd manifestări fenotipice variabile. În cazul leucemiei acute limfoblastice, celula determinantă poate fi o celulă limfoidă de tip non-T, non-B, sau o celulă pre-B; leucemiile acute mieloblastice apar atunci cînd defectul interesează o celulă sușă mieloidă primitivă, în timp ce în leucemiile mieloid cronice ținta este reprezentată de o celulă sușă mieloidă mai diferențiată.

(c) Celulele leucemice din leucemia acută limfoblastică pot deriva uneori din celule de tip B, iar în aceste cazuri a fost demonstrată existența unui cromozom marker de tip $14q+$. Uneori, acest cromozom este rezultatul unei translocații $t(8q-; 14q+)$, similară celei

descrișă în limfomul Burkitt (9). Pe această bază s-a propus individualizarea unui subgrup de leucemii acute limfoblastice, care ar reprezenta faza leucemică a unui limfom Burkitt neendemic. Din punct de vedere clinic, boala se caracterizează printr-o evoluție rapidă, cu febră, anemie și trombocitopenie.

3.5.4.5.

Policitemia vera

Anomaliile cromozomiale observate mai frecvent la cazurile tratate interesează cu deosebire cromozomii nr. 1, 8, 9 și 20. Cromozomul nr. 1 este implicat de obicei într-o translocatie, cromozomii nr. 8 și 9 sunt trisomici, iar cromozomul nr. 20 prezintă o deleție a brațului său lung. Trăsătura cea mai distinctivă a bolii este reprezentată de markerul 20q — prezent în 25% din cazuri.

3.5.4.6.

Boli micloproliferative

Acest grup heterogen cuprinde preleucemia, mieloscleroza, anemia sideroblastică, anemia sideroacrescică, anemia refractară, trombocitoza, trombocitopenia, granulocitopenia și pancitopenia. Conform datelor prezentate la cel de al doilea simpozion internațional asupra cromozomilor (59), 49% din bolnavi au cariotipuri normale, în timp ce la restul de 51% au fost depistate anomalii cromozomiale, reprezentate mai frecvent de deleția brațului lung al unui cromozom nr. 5, monosomia 7 și trisomia 8. S-a constatat că există o corelație între frecvența metafazelor anormale și dezvoltarea ulterioară a leucemiei acute nelimfocitare, progresiunea spre leucemie survenind mai frecvent la bolnavii care prezentau numai metafaze anormale sau atât metafaze anormale, cât și metafaze normale, decât la bolnavii ale căror metafaze medulare erau în exclusivitate normale.

Rezultatele, care în ansamblu indică faptul că frecvența și tipul anomaliilor cromozomiale observate în preleucemii sînt similare celor observate în leucemiile cu un tablou clinic-hematologic complet, sugerează că preleucemiile ar fi o fază timpurie preclinică a leucemiilor.

3.5.4.7.

Gamopatii monoclonale

Cazurile studiate pînă în prezent cu ajutorul tehnicilor de bandare includ mioame multiple, leucemii plasmocitare și macroglobulinemii Waldenström. Cromozomii cei mai frecvent afectați sînt nr. 1, 3, 11 și 14. Markerul 14q+, observat în 40% din cazuri, reprezintă anomalia cea mai comună în acest grup de boli (29).

3.5.4.8.

Limfoame

În anul 1971, Manolov și Manolova (31) au descris o anomalie cromozomială constînd în prezența unei benzi suplimentare pe brațul lung al unui cromozom nr. 14, la bolnavii cu limfom Burkitt, o tumoare derivată din celulele B. Ulterior s-a observat că brațul lung al unui cromozom nr. 8 avea dimensiuni reduse în comparație cu omologul său normal. Deoarece lungimea și morfologia segmentului absent de pe cromozomul nr. 8 corespundea materialului suplimentar de pe cromozomul nr. 14, s-a sugerat existența unei translocatii între cromozomii 8 și 14, care ar da naștere concomitent la doi markeri: 8q- și 14q+. Translocatia t(8q-; 14q+) a fost regăsită la aproape toate cazurile de limfom Burkitt, indiferent de tipul african sau neafrican al limfomului și indiferent de prezența sau absența virusului Epstein-Barr din celule. Recent, au fost descrise translocatii variante în unele cazuri de limfom Burkitt neendemic. În aceste cazuri a fost observată în mod constant deleția extremității distale a cromozomului nr. 8, elementul variabil fiind reprezentat exclusiv de cromozomii acceptori ai materialului translocat. Pe această bază s-a presupus că rearanjamentul cromozomului nr. 8, în sensul unei rupturi la nivelul benzii 8q24, reprezintă un eveniment de importanță esențială în dezvoltarea acestui tip de boală malignă (14).

În *boala Hodgkin* există un procent mare de metafaze normale, diploide, alături de care apar clone anormale, care conțin adesea cromozomi markeri (39).

În *limfoamele nehodgkiniene*, anomalia cea mai frecventă, întâlnită în aproximativ 56% din cazuri, este a cromozomului marker 14q+. Ceilalți cromozomi afectați sînt, în ordinea frecvenței, nr. 1, 6, 3 și 11 (33).

Faptul că în limfoame a fost demonstrată existența unor modificări cromozomiale sistematizate, neîntîmplătoare, face posibil ca în viitor să se coreleze datele citogenetice cu aspectul histologic, evoluția clinică și prognosticul. Se speră ca astfel analiza cromozomială să devină un parametru util pentru clasificarea limfoamelor. Unele date interesante referitoare la posibilitatea de a diferenția limfoamele maligne de limfadenopatiile benigne au fost deja publicate de Pierre și colab. (46).

3.5.5.

Anomalii cromozomiale în tumorile umane

3.5.5.1.

Tumori benigne

3.5.5.1.1.

Meningioamele

Meningioamele constituie un grup de tumori umane extrem de minuțios studiate din punct de vedere citogenetic. Datele publicate relevă existența unui grup de tumori diploide, care interesează aproximativ 30% din bolnavi. Restul bolnavilor au modificări cromozomiale care, într-un procent substanțial de cazuri, sînt date de monosomia cromozomului nr. 22, precedată de deleția brațului lung al acestui cromozom. În unele tumori apar deviații cariotipice adiționale monosomiei 22 (37, 72).

Yamada și colab. (69) presupun că similitudinea modificărilor cromozomiale din meningioame și leucemia mieloidă cronică ar arăta că factorii genetici situați pe cromozomul 22 sînt implicați în controlul proliferării celulare. În acest sens, modificările cromozomiale inițiale (monosomia 22) ar corespunde unui stadiu precoce al transformării maligne, chiar în tumorile cu un aspect histologic benign. Prezența modificării cromozomiale mai severe, reprezentate de hipodiploidie accentuată și de apariția unor cromozomi markeri, a fost observată în unele tumori care au invadat calota, precum și în meningioamele recidivante.

3.5.5.1.2.

Tumori mixte ale glandelor salivare (adenoamele pleomorfe)

Datele publicate de Mark și colab. (34) sugerează că majoritatea adenoamelor pleomorfe au, la origine, o constituție cromozomială normală diploidă. În decursul progresiunii citogenetice apar modificări structurale, constituindu-se linii celulare pseudodiploide; aceste modificări sînt reprezentate de obicei de translocării, aspectul cel mai frecvent observat fiind translocarea dintre cromozomii 3 și 8, t(3; 8). În unele cazuri, teritorii diferite ale aceleiași tumori au aspecte citogenetice diferite, ceea ce demonstrează posibilitatea evoluției policlonale a tumorilor.

3.5.5.1.3.

Polipii colonului

În polipii colonului au fost observate, încă înainte de introducerea tehnicilor de bandare, anomalii cromozomiale constând, de obicei, în prezența unor cromozomi suplimentari în grupele C și D. Cu ajutorul metodelor de bandare s-a demonstrat că deviațiile interesează în mod deosebit cromozomii nr. 8 și 14.

Prezența unor anomalii cromozomiale în tumorile benigne face posibilă detectarea etapelor inițiale, precoce ale transformării maligne pe baza analizei cariotipice. Anatomopatologii ar avea la dispoziție un criteriu suplimentar de evaluare a malignității în situațiile în care rezultatele examenului histologic nu sînt concludente.

3.5.5.2.

Tumori maligne

3.5.5.2.1

Retinoblastoamele

Retinoblastoamele, cele mai frecvente tumori oculare ale copilului, au fost investigate în detaliu, conturîndu-se existența a două grupe de bolnavi. Primul grup include cazurile în care retinoblastomul se asociază cu întârzierea mintală sau defecte somatice congenitale; în aceste cazuri, tumorile apar mai precoce (vîrsta medie: 9 luni) și sînt adesea bilaterale. În toate celulele organismului acestui grup de bolnavi se observă deleția brațului lung al unui cromozom nr. 13 (13q—). La al doilea grup de bolnavi, retinoblastoamele reprezintă fenomene izolate, sporadice; tumorile sînt de obicei unilaterale și apar ceva mai tardiv (vîrsta medie: 24 luni). Deosebit de interesant este faptul că anomalia cromozomială prezentă la acești bolnavi, de data aceasta exclusiv în celulele tumorale, constă tot dintr-o deleție a unui cromozom nr. 13. Mai mult decît atît, metodele de rezoluție înaltă a cromozomilor au arătat că în ambele situații segmentul critic este porțiunea mijlocie a benzii 13q14.

3.5.5.2.2.

Asocierea dintre tumoarea Wilms și aniridia bilaterală

Aproximativ 10% din bolnavii cu tumoare Wilms au și o aniridia bilaterală. În aceste cazuri a fost demonstrată existența unei deleții interstițiale a brațului scurt al cromozomului nr. 11 segmentul critic fiind reprezentat de cele două treimi distale ale bandei p13 (47). Faptul că cele două leziuni apar simultan sugerează că genele pentru aniridia și pentru tumoarea Wilms sînt învecinate, iar deleția le elimină pe amîndouă (70).

3.5.5.2.3.

Alte tumori umane

Cercetări recente au demonstrat că și în alte tumori umane apar modificări cromozomiale sistematizate. Astfel, investigațiile lui Wake și colab.

(64) au arătat că toate *chistadenoamele papilifere seroase ale ovarului* sînt caracterizate prin apariția anomaliei 14q+, 16q— sau a ambelor; în unele cazuri apare o translocatie reciprocă t(6; 14). Autorii au avut impresia că prezența sau absența anomaliei 14q+ ar putea avea o importanță deosebită, tumorile care conțin markerul 14q+ constituind un grup histologic și clinic relativ omogen. Aceste date demonstrează din nou necesitatea de a studia detaliat, cu ajutorul tehnicilor de bandare, tumorile umane, cu scopul de a detecta modificări cromozomiale caracteristice fiecărui grup histologic.

În *cancerle testiculare* Wang și colab. (65) au remarcat frecvența interesantă a cromozomului nr. 1, de obicei în sensul unei trisomii a brațului lung. Anomalii ale aceluiași cromozom, implicînd de obicei translocatii ale brațului lung, au fost observate și în *tumorile mamare* (44).

3.5.6.

Anomalii cromozomiale în tumorile experimentale

Studiul tumorilor experimentale a permis în numeroase cazuri identificarea unor anomalii cromozomiale sistematizate, constante. Principalele sisteme experimentale preconizate și rezultatele obținute sînt prezentate pe scurt în cadrul acestui paragraf.

3.5.6.1.

Leucemiile murine

Primele cercetări asupra leucemiei cu celule timice (Thy-l-pozitive) au fost făcute de Dofuku și colab. (12), care au descris apariția unui cromozom suplimentar nr. 15 la șoarecii AKR cu leucemii spontane. Ulterior, aceeași anomalie a fost observată și în alte leucemii cu celule T, cum ar fi leucemiile induse cu raze X (10), leucemiile induse cu 7,12-dimetilbenz(a)-antracen (68) și cele induse de virusul leucemiilor prin radiații (67). Cercetările lui Wiener și colab. (66) sugerează că elementul esențial în dezvoltarea leucemiilor este duplicarea segmentului distal al cromozomului nr. 15. Este posibil ca partea distală a acestui cromozom să conțină gene importante pentru dezvoltarea leucemiei — poate în raport cu dozajul genetic — sau ca duplicarea acestei părți a genomului să confere un avantaj selectiv celulelor în decursul evoluției progresive a leucemiei.

În limfoamele Thy-l-negative induse cu 7,12-dimetilbenz(a)-antracen a fost observată însă în mod constant o trisomie a cromozomului nr. 1, asociată cu o trisomie a cromozomului nr. 3. sau a cromozomului nr. 15. Pe baza acestei deosebiri cromozomiale nete între limfoamele Thy-l-pozitive și limfoamele Thy-l-negative induse cu același agent etiologic, Spira și colab. (61) sugerează că anomaliile cromozomiale sistematizate care apar în diferitele limfoame ar fi determinate nu atît de agentul etiologic, cît de tipul celulei țintă.

În leucemiile murine se conturează de asemenea existența unei modificări caracteristice (20), constînd în deleția unui cromozom nr. 2. Mărimea segmentului pierdut a fost întrucîtva variabilă la diferite animale, dar se pare că o importanță critică o joacă deleția bandei 2D, evidențiată în toate cazurile.

Rezultate interesante au fost obținute și prin studiul plasmocitoamelor murine, tumori derivate din celulele B. În toate tumorile examinate unul din

cromozomii nr. 15 era implicat într-o translocatie, mai adesea cu cromozomul nr. 12 (12q+; 15q—), punctul de fractură fiind situat la banda D3 a cromozomului nr. 15. În aceste tumori există un singur cromozom X normal; la șoarecii masculi se pierde cromozomul Y; la femele, unul din cromozomii X are o deleție a brațului lung (60).

3.5.6.2.

Tumorile șobolanilor

Studiul tumorilor experimentale ale șobolanilor a prilejuit obținerea unor rezultate extrem de interesante. Într-o primă etapă, Kurita și colab. (24) au examinat leucemiile induse cu 7,12-dimetilbenz(a)-antracen, constatând prezența unei trisomii, care interesa cel mai lung cromozom telocentric, cromozomul A2. Ulterior, Levan și colab. (26) au observat apariția aceleiași anomalii în sarcoamele și carcinoamele induse de dimetilbenz(a)-antracen la aceeași specie.

În sarcoamele induse la șobolani de virusul sarcomului Rous au fost însă observate modificări citogenetice diferite, deși tabloul histologic al tumorilor era identic. Anomalia inițială constă în apariția unui cromozom suplimentar B7, urmată de apariția unui cromozom suplimentar C13 și în final a unui cromozom suplimentar C12. Apariția ordonată a acestor modificări sugerează existența unui model secvențial de evoluție cromozomială (28).

3.5.7.

Discuții

3.5.7.1.

Semnificația modificărilor cromozomiale

Modificările cromozomiale observate în leucemiile, limfoamele maligne și tumorile umane sînt destul de variate și joacă, probabil, roluri diferite în geneza și dezvoltarea neoplaziilor. După cum am văzut, unele leucemii și limfoame se asociază în mod constant cu anomalii cromozomiale specifice, în care cazuri este posibil ca prezența modificărilor cromozomiale să confere celulelor un avantaj selectiv în comparație cu celulele care au un cariotip normal. Alte modificări ar putea să aibă un caracter neutru, permițînd celulelor să supraviețuiască, fără să le ofere însă un avantaj proliferativ diferențial. În sfîrșit, alte rearanjamente ar putea fi letale, celulele purtătoare fiind eliminate.

Vor fi discutate trei aspecte particulare: pierderea sau achiziționarea anumitor cromozomi specifici; apariția unor translocatii constante; apariția cromozomilor markeri.

a) *Achizițiile sau pierderile de cromozomi* intervin în procesul de carcinogeneză prin alterarea echilibrului genic. În aceste condiții se modifică nivelul genelor structurale din celule și, consecutiv, cantitatea de produși sintetizați din celule.

În unele cazuri, pierderea materialului de pe un cromozom ar permite expresia unor gene transformate recesive. În alte cazuri această pierdere ar putea modifica echilibrul dintre genele care intervin în expresia și respectiv

supresia malignității, gene a căror existență a fost sugerată de numeroase cercetări experimentale.

b) Mecanismul de apariție și semnificația *translocațiilor* observate în mod constant în anumite tumori și leucemii este greu de stabilit. Rupturile cromozomiale și rearanjamentele ar putea apărea, cu o frecvență redusă, în mod continuu; numai cele care conferă un avantaj selectiv ar fi însă reținute și ar da naștere unor clone celulare. Pe de altă parte, este posibil ca anumiți cromozomi și, în mod particular, anumite regiuni cromozomiale să aibă o vulnerabilitate deosebită la acțiunea agenților mutageni. În acest sens pledează cercetări experimentale care au demonstrat că cromozomii nr. 1, 2 și 3 ai șobolanului manifestă o susceptibilitate deosebită la acțiunea unei game largi de agenți chimici (41).

Alte mecanisme posibile ale apariției *translocațiilor* au fost discutate recent de Rowley (50). Ar fi astfel posibil ca apropierea dintre anumiți cromozomi sau anumite regiuni cromozomiale în nucleul interfazic să favorizeze apariția unor *translocații* specifice. Pe de altă parte, s-ar putea ca regiunile cromozomiale cu ADN omolog să se împerecheze în mod preferențial, fiind astfel implicate în rearanjamente; un argument în favoarea acestei ipoteze este faptul că mulți din cromozomii afectați, de exemplu nr. 1, 9, 14, 15, 21 și 22, intervin în organizarea nucleolară, ceea ce ar duce la o apropiere fizică strânsă. În sfârșit, Rowley (50) menționează și un al treilea mecanism, extrem de interesant, în care intervin elemente genetice transpozabile, identificate ca plasmide și secvențe inserționale la bacterii. Ele ar putea fi integrate în sedii specifice, exercitând un control asupra activității secvențelor învecinate — în sensul unei creșteri sau scăderi a produșilor genetici — control care depinde de poziția și orientarea în locusul genic. Aceste elemente transpozabile ar putea, de asemenea, să determine mici deleții în vecinătatea sediului lor de inserție și, prin deplasarea lor în alte sedii ale genomului, ar transpune uneori materialul genetic al gazdei în noile localizări. Deși nu există dovezi directe în favoarea existenței unor elemente cu rol de control în celulele mamiferelor, unele date sînt compatibile cu existența lor.

c) *Cromozomii markeri*, avînd o morfologie anormală, sînt prezenți în majoritatea cancerelor. Atît aspectul, cît și dimensiunile lor sînt extrem de variabile (fig. 3.16). Apariția cromozomilor markeri presupune deplasări pe scară largă ale secvențelor ADN din cromozomi, iar aceste modificări ar putea altera mecanismul normal de reglare genetică din celule, contribuind la comportamentul biologic autonom al tumorilor maligne.

În ultimul timp s-a acordat o atenție deosebită cromozomilor markeri care prezintă regiuni colorate omogen și cromozomilor „minute”. Regiunile colorate omogen, descrise inițial de Biedler (7) în linii celulare de hamster chinez rezistente la droguri, au fost observate ulterior și în alte tumori experimentale, precum și în tumori umane. Este vorba despre regiuni lungi, nebandate, contrastînd cu modelul distinct de benzi de pe restul cromozomului (fig. 3.17). Cromozomii „minute” sînt structuri mici, alcătuite din ADN, care se colorează palid cu ajutorul diferitelor metode de bandare; fiind lipsiți de centromer, cromozomii „minute” se atașează în decursul diviziunii celulare de resturile materialului nucleolar sau de extremitățile altor cromozomi. Experiențe recente au demonstrat că în cazul regiunilor colorate omogen și a cromozomilor „minute” are loc o amplificare a numărului de copii genice (5). Astfel, liniile celulare de

hamster chinez expuse la metotrexat dezvoltă niveluri foarte înalte ale dihidrofolat-reductazei în asociere cu rezistența față de drog. Din cele 13 linii

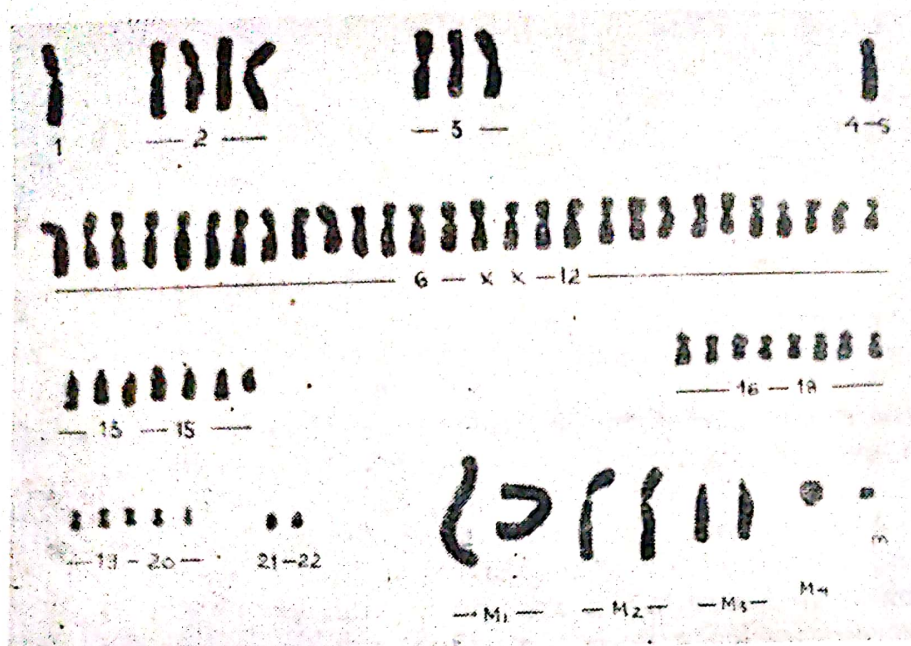


Fig. 3.16. — Cariotipul unei celule provenită dintr-un cancer ovarian. Se remarcă prezența a 4 tipuri de cromozomi markeri (M₁, M₂, M₃ și M₄) și a unui cromozom „minute” (m).



Fig. 3.17. — Regiunea cromozomială colorată omogen într-o celulă provenită dintr-un sarcom indus cu nichel la șobolani.

celulare rezistente la droguri, derivate în mod independent, numai cele care prezentau o creștere a activității enzimactice care depășea de 100 de ori nivelul normal conțineau cromozomi cu regiuni colorate omogen.

Recent, Atkin (4) a subliniat asocierea dintre variantele heterocromatinei și cancer, incluzând formele cele mai frecvente de carcinoame, limfoame și boli mieloproliferative. Heteromorfismul, care constă în prezența cantității diferite de heterocromatină sau în prezența unei inversii la unul din cromozomii omologi, este observat mai frecvent la cromozomii nr. 1, 9 și 16. Nu este încă cunoscut modul în care heteromorfismul heterocromatinei (care este o trăsătură ereditară) favorizează transformarea neoplazică. Se presupune că polimorfismul cromozomial ar fi unul din factorii genetici implicați în carcinogeneză, acționând prin creșterea susceptibilității față de agenții mutageni.

3.5.7.2.

Relația dintre natura agentului cancerigen și tipul anomaliilor cromozomiale

Numeroase cercetări experimentale au evidențiat existența unei relații între natura agentului cancerigen și anomaliile cromozomiale induse.

Astfel, după cum am menționat, tumorile induse de virusul sarcomului Rous la șobolani prezintă trisomia cromozomilor nr. 7. În decursul transplantărilor seriate ale tumorilor apar, secvențial, și alte modificări, constând în trisomia cromozomului nr. 13 și a cromozomului nr. 12 (28). Leucemiile, sarcoamele și carcinoamele induse la aceeași specie de dimetilbenzantracen (DMBA) au însă fie o trisomie a cromozomilor nr. 2, fie o modificare structurală care determină trisomia unui segment al acestui cromozom (24, 26). Modificări similare ale cromozomilor nr. 2 au fost observate și în sarcoamele induse de benzpiren (BP), de metilcolantren (MC) și de N-nitrozo-N-butiluree (62). În timp ce în tumorile induse de DMBA există o fracțiune considerabilă de celule cu un cariotip normal, diploid, aceste celule sînt rare în tumorile induse de BP și MC, unde apar modificări mai complexe. S-a constatat că în cazul tumorilor induse de agenți chimici la șobolani, variabilitatea cariotipică crește conform secvenței: $DMBA < MC < BP$. Potențialul oncogen al acestor compuși variază însă în sens invers, crescînd în ordinea seriei $PB < MC < DMBA$. Pe această bază, Levan (27) a sugerat că agenții cancerigeni mai puternici, ca DMBA, exercită o acțiune mai selectivă asupra locilor cromozomiali implicați în carcinogeneză și induc astfel mai puține accidente cromozomiale decît cancerigenii mai slabi, ca BP și MC, care vor ataca cromozomii mai puțin selectiv și, în consecință, vor induce mai multe modificări accidentale înainte de a declanșa combinația de modificări semnificative pentru apariția cancerului.

Studiul tumorilor induse de DMBA și de virusul sarcomului Rous la hamsteri chinezi a dus la obținerea unor rezultate asemănătoare. În tumorile induse de virusul sarcomului Rous apar unul sau mai mulți cromozomi adiționali în perechile nr. 5, 6 sau 10, în timp ce tumorile induse de DMBA la aceeași specie se caracterizează prin trisomia perechii nr. 11 (37).

Pe baza acestor rezultate, Levan și colab. (27) au conchis că modificările cromozomiale din cursul oncogenezei urmează anumite modele, influențate de agentul inductor care programează cariotipul pentru o secvență specifică de modificări cromozomiale diferită în funcție de agentul incriminat.

Datele referitoare la influența factorilor etiologici asupra cariotipului tumorilor umane sînt mai reduse. Articolul recent publicat de Mitelman și colab. (36) conține însă elemente extrem de interesante. În acest studiu au fost incluși 56 de bolnavi cu leucemie acută nelimfocitară, al căror cariotip și ocupație erau

cunoscute; 23 din ei suferiseră în antecedente o expunere ocupațională la agenți chimici, insecticide sau derivați de petrol, în timp ce ceilalți nu fuseseră expuși la acești agenți. Analiza cariotipică detaliată a arătat existența unor diferențe rețe între aceste două grupe: numai 24,2% din bolnavii din grupul neexpus prezentau aberații clonale, în comparație cu 82,6% din grupul expus; în grupul expus exista un aspect evident sistematizat al anomaliilor, 84,2% din acești bolnavi având una din următoarele modificări: -5 , -7 , $+8$ sau $+21$, în timp ce numai doi bolnavi din grupul neexpus aveau una din aceste aberații.

3.5.7.3.

Modificări cromozomiale particulare anumitor țesuturi

Cercetări din ce în ce mai numeroase relevă, pe de altă parte, existența unor modificări cromozomiale particulare care apar, în mod specific, în anumite țesuturi. Cea mai cunoscută anomalie din acest grup este prezența cromozomului Ph^1 , a cărei apariție pare să fie limitată la descendenții celulelor sușă pluripotente, îndeosebi la celulele sușă mieloide. În mod similar, cromozomul marker $t(15q+; 17q-)$ a fost observat numai în celulele oprite în stadiul promielocitar, în timp ce anomaliile cromozomului nr. 14 sînt observate cu frecvență maximă în neoplaziile limfoide, translocția $t(8q-; 14q+)$ fiind cea mai constantă modificare din limfomul Burkitt.

Unele investigații experimentale au relevat date asemănătoare. Astfel, la șoarece, anomaliile cromozomilor nr. 15 sînt întîlnite în neoplaziile limfoide (10, 12, 66, 68), în timp ce anomaliile cromozomilor nr. 2 sînt observate cu precădere în leucemiile mieloide (20).

3.5.8.

Concluzii

Prezența anomaliilor cromozomiale, recunoscută de multă vreme, a dat naștere unor discuții contradictorii. La început, s-a crezut că anomaliile cromozomiale ar constitui un simplu simptom al bolii, fără nici un rol în inițierea sau în progresiunea tumorilor. Pe măsura acumulării datelor s-a observat însă că anomaliile cromozomiale, atît cele numerice (monosomii, trisomii), cît și cele structurale (cromozomi markeri) au un caracter sistematizat, apărînd în mod preferențial în anumite categorii de tumori.

Am arătat, în unul din paragrafele precedente, că un anumit agent cauzal poate să inducă modificări cariotipice similare în diferite țesuturi. Am văzut însă că există și excepții și că țesutul poate influența în mare măsură tipul anomaliilor cromozomiale care sînt observate. Mai mult, tumorile care interesează aceleași tipuri de țesuturi, dar care apar la persoane diferite, prezintă adesea diferențe cariotipice. Aceste fapte demonstrează că genomul gazdei joacă un rol cheie în apariția modificărilor cromozomiale sistematizate. Se pare astfel că prezența sau absența modificărilor cromozomiale sistematizate (sau nesistematizate) reflectă acțiunea unei constelații de factori, care includ agentul cauzal, natura țesutului și genomul gazdei (54).

Se pare că atît cancerigenii fizici și chimici, cît și virusurile pot să inducă modificări cromozomiale responsabile pentru tranziția celulelor normale în

celule preneoplazice și apoi în celule net maligne. Apariția modificărilor cromozomiale specifice ar putea fi consecința unei interesări preferențiale a anumitor cromozomi, al căror conținut genic este important pentru apariția stării de malignitate. Pare însă mai plauzibil ca modificările să apară la întâmplare, fiind ulterior fixate selectiv datorită avantajului proliferativ al clonelor purtătoare ale acestor anomalii. Indiferent de mecanism, s-ar ajunge însă la o „convergență citogenetică”, respectiv la apariția unor modificări cromozomiale sistematizate. Prezența anomaliilor cromozomiale modifică dozajul genic (deleții, duplicări parțiale sau trisomii) sau afectează expresia genică (translocații).

Celulele anormale achiziționează ulterior, în decursul procesului de evoluție clonală, anomalii cromozomiale suplimentare. Unele din aceste variante celulare noi ar putea fi dotate cu proprietăți speciale (capacitate infiltrativă, metastazare), în timp ce altele ar fi chimiorezistente, radiorezistente etc. Este foarte posibil ca această remodelare continuă a tumorilor, cu emergența temporară a unor linii mai bine adaptate, să explice multe din insuccesele metodelor actuale de chimioterapie sau imunoterapie (38).

3.6.

Sindroame genetice asociate cu cancerul

3.6.1.

Anomalii cromozomiale

Există câteva situații când toate celulele unei anumite persoane prezintă un cariotip anormal (ceea ce se traduce, evident, printr-un fenotip caracteristic anomaliei cromozomiale corespunzătoare) și când există, concomitent, o predispoziție pentru boli maligne.

Cea mai cunoscută situație este *sindromul Down*, datorit prezenței unui cromozom suplimentar nr. 21 (trisomie 21), în care există o creștere de 10—20 ori a incidenței tumorilor solide. Riscul este crescut în formele obișnuite (trisomia standard), ca și în formele datorate translocațiilor și în formele în mozaic. De asemenea, vârful mortalității datorat leucemiei acute apare, în sindromul Down, cu 2—3 ani mai devreme decât la populația infantilă martoră.

Deși cazurile sînt mai puțin numeroase, se pare că și în *sindromul de trisomie a cromozomilor 13* și în *sindromul Klinefelter* există o incidență crescută a leucemiei.

Sindromul de deleție a cromozomului 13 predispune la apariția, adesea bilaterală, a retinoblastomului. Se pare că este interesată o anumită porțiune interstițială a brațului lung al cromozomului 13, deci gena care determină apariția retinoblastomului ar fi localizată pe brațul lung al acestui cromozom.

La bărbații cu sindrom *Klinefelter* (cariotip 47, XXY) se întâlnește o incidență a cancerului mamar asemănătoare celei observată la femei. În mod similar, persoanele cu *fenotip feminin și cariotip 46, XY sau cu un mozaicism al cromozomilor sexuali în cadrul cărora există o linie celulară cu un cromozom Y*, au o incidență mare, 30—40% gonadoblastoame sau disgermi-noame, adesea bilaterale. Nu se știe dacă predispoziția pentru malignitate a gonadelor disgenetice este datorată unei mutații genice unice (forma familială) sau prezenței cromozomului Y într-un mediu anatomic anormal.

3.6.2.

Boli mutagene

În această categorie sînt incluse afecțiuni cu transmitere recesivă, care predispun la cancer datorită unor deficiențe în repararea leziunilor acidului dezoxiribonucleic (ADN), induse de anumiți agenți din mediul înconjurător.

a) *Xeroderma pigmentosum* se caracterizează printr-o sensibilitate deosebită la lumina solară. Pe pielea expusă la lumină apar de timpuriu modificări pigmentare, atrofie, keratoză și carcinoame.

Incidența afecțiunii, care se transmite autosomal-recesiv, este de 1:65 000—1:100 000. Purtătorii heterozigoși pot să aibă excesiv de numeroși pistrui.

Heterogenitatea clinică a cazurilor se manifestă prin existența unui subgrup caracterizat prin întârziere mintală și anomalii neurologice (sindromul de Sanctis-Cacchione).

Baza predispoziției pentru cancerul pielii o constituie o anomalie metabolică în repararea leziunilor induse ale ADN. Cleaver a demonstrat că în fibroblastele cutanate provenite de la subiecții afectați există o reducere a exciziei de reparare a ADN in vitro în urma expunerii la lumină ultravioletă, agent care provoacă dimerizarea timinei din lanțul polinucleotidic. Ruperea enzimatică a lanțului (incizie), necesară înainte ca repararea să aibă loc, nu survine în această boală.

Efectele diferiților agenți chimici cariogeni și mutageni care provoacă afectarea ADN au fost de asemenea testate asupra celulelor provenite de la bolnavi cu xeroderma pigmentosum, constatîndu-se că repararea este redusă pentru majoritatea acestor agenți.

Anomaliile cromozomiale au fost, de asemenea, studiate. Nici în limfocite, nici în fibroblaste nu există o creștere a rupturilor cromozomiale sau a rearanjamentelor (cum se observă în sindroamele Bloom și Fanconi), dar a fost remarcat un exces de clone pseudodiploide care conțin translocatii reciproce. Expunerea la radiații ultraviolete determină o creștere a incidenței translocatiilor reciproce.

În xeroderma pigmentosum, transformarea malignă apare precoce, chiar la vîrsta de 3—4 ani. Principalele tipuri histologice sînt carcinoamele bazocelulare și pavimentoase, dar și melanoamele sînt destul de frecvente. Întrucît celulele de xeroderma pigmentosum sînt incapabile să repare anumite tipuri de leziuni induse chimic ale ADN, se poate presupune că supraviețuitorii sînt susceptibili și la tumorile induse chimic.

b) *Ataxia-teleangiectazia* (sindromul *Louis-Barr*), descrisă de Louis-Barr în 1941, se caracterizează prin ataxie cerebeloasă progresivă, teleangiectazii conjunctivale și cutanate și infecții respiratorii frecvente și severe. Modul de transmitere este autosomal-recesiv. Sindromul se asociază cu deficiențe imune.

Ataxia-teleangiectazia se asociază îndeosebi cu limfoame maligne, dar și cu cancere gastrice, tumori cerebrale și disgerminoame. Heterozigoții pentru ataxie-teleangiectazie, a căror frecvență în populația generală este de aproximativ 1%, prezintă o creștere a incidenței cancerului și leucemiei.

Bolnavii cu ataxie-teleangiectazie au o frecvență mare a anomaliilor cromozomiale, constînd în rupturi și rearanjamente, atît în limfocite, cît și în fibroblaste. În limfocite se evidențiază adesea clone care au un cromozom marker derivat din cromozomul nr. 14, a cărei extremitate terminală este implicată în procese de translocatie cu alți cromozomi (19).

Bolnavii de ataxie-teleangiectazie sînt deosebit de sensibili la iradierea X. Radiațiile ionizante cresc și incidența aberațiilor cromozomiale din limfocitele cultivate *in vitro*. Această sensibilitate la radiații ionizante este datorată unui defect în repararea leziunilor ADN, determinat de deficiența unei -endonucleaze care intervine în excizia reziduurilor de baze modificate. Predispoziția pentru cancer este consecința acestei mutabilități crescute a ADN.

c) *Anemia Fanconi*, sindrom descris de Fanconi în 1927, se caracterizează printr-o pancitopenie apărută de la naștere, anomalii somatice (îndeosebi ale radiusului), malformații renale, hiperpigmentarea pielii, întârzierea creșterii, deficiența intelectuală și surditate. Boala se transmite autosomal-recesiv.

O trăsătură remarcabilă a anemiei Fanconi o constituie frecvența mare a anomaliilor cromozomiale, constînd în lacune cromatice, rupturi și inter-schimburi care interesează cromozomii neomologi.

Bolnavii cu anemie Fanconi au o predispoziție pentru leucemie. Heterozigoții pentru gena anemiei Fanconi prezintă o incidență crescută a cancerului.

Todaro și colab. au dezvoltat o tehnică ce permite măsurarea susceptibilității celulelor din culturi la transformarea sub influența unor virusuri oncogene pentru animalele de experiență. Atunci cînd unul din aceste virusuri, virusul simian 40 (SV40) este adăugat *in vitro* fibroblastelor de la persoane normale, unele din celule se transformă, modificîndu-și aspectul și crescînd în colonii și nu în monostrat. Atunci cînd testul a fost aplicat fibroblastelor provenite de la persoane cu anemie Fanconi, s-a constatat o creștere de 10—50 de ori a numărului de colonii transformate. Părinții heterozigoți ai copiilor cu anemie Fanconi au o susceptibilitate la transformare similară cu cea a homozigoților, deși nu au anomalii fenotipice sau citogenetice. Aceste rezultate sugerează că procedeul de transformare poate fi utilizat pentru detectarea stării de purtător (35).

Defectul fundamental din anemia Fanconi nu este cunoscut, dar există dovezi care demonstrează existența unei mutabilități crescute a ADN (datorită probabil unei deficiențe în repararea legăturilor transversale intercatenare ale ADN), care răspund, la rîndul lor, de predispoziția pentru cancer.

(d) *Sindromul Bloom*, descris de Bloom în 1954, se caracterizează prin întârzierea creșterii, eritem facial teleangiectatic, sensibilitate la lumina solară și susceptibilitate la infecții. Ulterior, German și colab. (17) au arătat că bolnavii au o frecvență crescută a consangvinității parentale și o origine evreiască. Transmiterea este autosomal-recesivă.

Atît în limfocitele, cît și în fibroblastele persoanelor afectate există o incidență crescută a anomaliilor cromozomiale, cele mai caracteristice fiind rearanjamentele cromozomiale care interesează doi cromozomi omologi. Baza moleculară a sensibilității solare nu este cunoscută, dar în fibroblaste s-a demonstrat o reducere a ratei de creștere a lanțului de ADN în decursul fazei S.

Predispoziția pentru boli maligne este deosebit de pronunțată. Din seria de 44 de bolnavi urmăriți de German, pînă în momentul apariției raportului său, patru au murit de leucemie la vîrstele de 13, 23, 25 și 55 ani; la unul a apărut un carcinom al limbii la 30 de ani, la unul reticulosarcom la 31 de ani, la unul adenocarcinom al colonului la 37 de ani, iar la unul, carcinom al esofagului și adenocarcinom al colonului la 39 de ani.

Bolile caracterizate prin imunodeficiență

Prezența unei deficiențe imune, fie constituțională, fie dobândită, se asociază cu un risc crescut pentru cancer. Deficiențele imune constituționale sînt transmise fie prin intermediul cromozomului X (ereditate legată de sex), fie în mod autosomal-recesiv. În această grupă sînt cuprinse următoarele afecțiuni:

— *Agammaglobulinemia infantilă (tip Bruton)*, caracterizată prin absența imunității umorale, absența plasmocitelor și imunitate celulară normală. Transmiterea este legată de cromozomul X.

— *Sindromul Di George*, caracterizat clinic prin aplazie timică, absența imunității celulare și imunitate umorală normală, transmis în mod autosomal-recesiv.

— *Boala Wiskott-Aldrich*, în care există o deficiență a imunității umorale (scăderea IgM), depresia imunității celulare și adenopatii. Transmiterea se face prin intermediul cromozomului X.

— *Imunodeficiența severă combinată (tip Swiss)*, în care lipsește atât imunitatea umorală, cît și cea mediată celular. Modul de transmitere este fie autosomal-recesiv, fie legat de cromozomul X.

— *Deficiența izolată a IgA*, cu transmitere autosomal-dominantă.

— *Boala Chediak-Higashi*, a cărei expresie clinică este scăderea capacității de rezistență față de infecții, albinism parțial, nistagmus orizontal și granule leucocitare gigante și a cărei transmitere este autosomal-recesivă.

— *Imunodeficiențele comune variabile*, un grup heterogen, caracterizat prin debut tardiv și frecvența deficienței de IgA. Uneori îmbracă un caracter familial.

În hipoplazia timică Di George nu a fost raportată asocierea cu cancerul, dar boala este extrem de rară, iar supraviețuirea foarte scurtă, astfel încît existența unei predispoziții pentru cancer nu poate fi exclusă.

Agammaglobulinemia, imunodeficiențele severe combinate, boala Chediak-Higashi și sindromul Wiskott-Aldrich se asociază destul de frecvent cu limfoame maligne și leucemii (1). În imunodeficiențele comune variabile a fost notată apariția bolii Hodgkin, a limfosarcomelor, timomelor, retinoblastomelor, neuroblastomelor și rhabdomyosarcomelor. Carcinoamele gastrice apar frecvent în cazul deficienței de IgA.

Mecanismul prin care bolile caracterizate prin imunodeficiență predispun la neoplazii nu este cunoscut. Una din posibilități ar putea fi reprezentată de proliferarea celulelor mutante canceroase, care sînt în mod obișnuit controlate și supresate datorită funcției de supraveghere exercitată de sistemul imun. Faptul că tumorile iau de obicei naștere chiar în sistemul deficient face însă posibil ca mutațiile care induc imunodeficiența să determine și apariția cancerului. În sfîrșit, un alt mecanism posibil ar putea să fie creșterea susceptibilității față de un virus oncogen.

Tumorile ereditare

Cea mai sigură dovadă că modificările ereditare joacă un rol în originea cancerului este oferită de studiul tumorilor cu transmitere dominantă. În cele ce urmează, vom demonstra că tumorile ereditare sînt întîlnite în toate organele și vom discuta relația lor cu formele neereditare (22).

3.7.1.

Tumorile embrionare

— *Retinoblastomul*. Majoritatea cazurilor de retinoblastom apar sporadic, în cadrul unor familii ai căror membri nu sînt afectați. Varianta ereditară a retinoblastomului, mai rar observată, se transmite în mod autosomal-dominant. Aproximativ 68% din cazurile ereditare sînt bilaterale, restul de 32% fiind unilaterale. Proporția de cazuri bilaterale este mult mai scăzută în grupa retinoblastoamelor sporadice. O parte din cazurile ereditare apar, după cum am văzut, pe fondul unei deleții interstițiale a unui segment al cromozomului nr. 13; am menționat faptul că acești bolnavi, în plus față de retinoblastoame, au un grad de întîrziere somatică sau psihică.

Bolnavii cu retinoblastoame sporadice bilaterale prezintă mutații ale celulelor germinale; ei vor transmite gena la 50% din descendenți. Numai 10% din cazurile sporadice unilaterale sînt consecința unor mutații ale celulelor germinale; celelalte 90% din cazuri sînt neereditare, tumorile fiind produse prin mutații somatice.

Mutațiile germinale, care reprezintă substratul tuturor cazurilor bilaterale și al unor cazuri unilaterale, nu constituie cauza directă a tumorilor, ci creează numai o probabilitate crescută pentru apariția transformării maligne. Knudson (21) a imaginat un model simplu, conform căruia, înainte de apariția tumorilor, este necesar ca într-o celulă somatică să intervină un al doilea eveniment mutațional. Formele neereditare sînt de asemenea rezultatul a două mutații, dar de data aceasta ambele au loc în celulele somatice. Deosebirea dintre formele ereditare și cele neereditare este deci determinată numai de natura primei mutații: germinală la prima categorie de tumori, somatică la cea de a doua. Cazurile ereditare fac mai multe tumori, deoarece toate celulele retiniene sînt purtătoare ale primei mutații. Cazurile neereditare fac o singură tumoare, deoarece posibilitatea ca o succesiune a două evenimente rare să aibă loc în două celule diferite este extraordinar de mică. Apariția mai precoce a cazurilor ereditare de retinoblastom decît a celor neereditare poate fi explicată prin același mecanism: necesitatea unei singure mutații somatice. Vogel (63) sugerează însă că în unele cazuri neereditare, un singur eveniment mutațional — posibil o mică aberație cromozomială — ar putea fi suficientă pentru a produce tumoarea.

Persoanele care poartă gena afectată de mutația pentru retinoblastom prezintă o susceptibilitate deosebită pentru tumoare, penetranța fiind de ordinul a 95% (înțelegem prin penetranță, frecvența în procente cu care o genă dominantă sau recesivă omozigotă se manifestă în fenotipul purtător). Purtătorii genei sînt susceptibili și la alte tumori, îndeosebi la sarcoame osoase, care pot afecta 1% din purtători. Riscul este crescut net de iradiere; aplicarea unor doze mari de raze X pe orbită crește incidența sarcoamelor osoase

la 30%. Aceste rezultate sînt de acord cu ipoteza lui Knudsen: radiația ar induce o a doua mutație în celulele care sînt deja purtătoare ale primei mutații, iar celulele dublu mutate ar da naștere unor tumori.

În unele cazuri, nici unul din părinți nu este aparent afectat, deși copiii lor prezintă boala. Se presupune că în aceste cazuri unul din părinți poartă o „premutație“, spre deosebire de cei care poartă gena dominantă complet mutată. O dată ce premutația este convertită în linia germinală într-o mutație completă, ea se comportă în același fel ca și gena dominantă obișnuită.

— *Neuroblastomul*. Analiza datelor referitoare la neuroblastom demonstrează și în acest caz, existența unor forme ereditare și a unor forme neereditare. Formele ereditare sînt atribuite unor mutații dominante.

Neuroblastomul se poate asocia cu boala Hirschsprung. Este posibil ca aceeași genă să interfereze cu o cale de dezvoltare atît pentru neuroblastom, cît și pentru ganglionii mezenterici. Un alt defect asociat este heterocromia, care ar putea fi mediată de un defect al lanțului simpatic cervical.

— *Tumoarea Wilms*. Alături de cazurile nefamiliale, există numeroase cazuri de tumoare Wilms a rinichiului cu caracter familial. Modul de transmitere este compatibil cu intervenția unei gene dominante cu penetranță incompletă. Și în această situație, ca și în cazul retinoblastomului, formele familiale sînt mai frecvent bilaterale și sînt diagnosticate la o vîrstă mai mică decît formele nefamiliale.

Tumoarea Wilms se asociază uneori cu aniridia, o altă afecțiune cu transmitere dominantă. Hemihipertrofia congenitală este o altă entitate care se asociază cu tumoarea Wilms, cu tumori suprarenaliene și cu cancere hepatice primitive.

Reckwith a atras atenția asupra legăturii dintre sindromul de citomegalie viscerală (caracterizat prin omfalocel, macroglosie și citomegalia organelor viscerale: rinichi, suprarenale, ficat) și tumorile care apar în organele afectate.

3.7.2.

Tumorile endocrine

3.7.2.1.

Sindroamele de adenomatoză endocrină multiplă

Werner a fost primul care a intuit faptul că familiile în care apar o varietate de tumori endocrine, îndeosebi ale hipofiziei, paratiroidiei și insulelor pancreatice, sînt afectate de o genă dominantă cu efecte pleiotrope (pleiotropia constă în producerea de către o anumită genă mutantă a unor efecte multiple, aparent neînrudite).

În funcție de glandele interesate se deosebesc următoarele tipuri:

— *Adenomatoza endocrină multiplă tip 1*. Sindromul se caracterizează prin apariția tumorilor hipofizare, paratiroidiene, corticosuprarenaliene și a insulelor pancreatice. Simptomatologia clinică depinde de expresia endocrină a tumorilor. Deosebit de interesante sînt tumorile insulelor pancreatice care, în raport cu secreția, pot fi producătoare de glucagon, insulină sau gastrină. Secreția în exces a gastrinei poate să ducă la ulcere peptice multiple (sindrom Zollinger — Ellison).

— *Adenomatoza endocrină multiplă tip 2a (sindromul Sipple)* se caracterizează prin prezența feocromocitoamelor, a carcinoamelor medulare tiroidiene și a hiperplaziei sau adenoamelor paratiroidiene. Se găsesc de obicei tumori multiple din fiecare tip, iar numărul lor crește cu vârsta, astfel încât la 50—60 de ani, purtătorii genei au, în medie, câte 4 tumori de fiecare tip. Tumorile bilaterale sînt frecvente în tiroidă, ca și în suprarenale. Tumorile tiroidiene secretă atât calcitonină, cât și histaminază, iar feocromocitoamele secretă adrenalină.

— *Adenomatoza endocrină multiplă tip 2b.* Familiile cu adenomatoză Transmiterea se face în mod dominant. endocrină multiplă tip 2b, față de manifestările caracteristice tipului 2, au în plus neurinoame ale mucoaselor.

Și acest sindrom se transmite în mod dominant.

3.7.2.2.

Adenoamele paratiroidiene

În afară de sindroamele de adenomatoză endocrină multiplă, există tumori endocrine familiale de un singur tip. Astfel, adenoamele paratiroidiene pot avea un caracter familial fără să fie asociate cu unul din sindroamele de adenomatoză endocrină multiplă.

3.7.2.3.

Feocromocitoamele

Sistemul nervos simpatic este nu numai sediul neuroblastoamelor, ci și al feocromocitoamelor, tumori cu o malignitate redusă, a căror expresie clinică este reprezentată de hipertensiunea determinată de secreția de adrenalină și noradrenalină.

Feocromocitoamele pot fi ereditare (cu transmitere autosomală-dominantă) sau neereditare. Cazurile familiale apar mai timpuriu, iar tumorile sînt mai adesea multiple.

Feocromocitoamele apar cu o frecvență crescută la bolnavii cu neurofibromatoză, precum și printr-o afecțiune cu transmitere dominantă, sindromul Hippel-Lindau (caracterizat prin hemangioame cerebro-retiniene).

3.7.3.

Tumorile pielii

Cancerle cutanate sînt frecvente, cu deosebire în zonele cu însoțire puternică. Deși se crede că expunerea prelungită la soare sau la radiații ionizante terapeutice sau agenți chimici are drept consecință apariția carcinoamelor bazocelulare și pavimentoase, s-a demonstrat și existența unor forme ereditare.

— *Sindromul nevilor bazocelulari* se caracterizează prin prezența multor trăsături stigmatizante, din care menționăm: chisturi mandibulare, anomalii scheletice și tulburări endocrine. Trăsătura principală a sindromului o constituie carcinoamele bazocelulare multiple, care încep să se dezvolte încă de la vârsta de 2—3 ani, dar care sînt în general diagnosticate la pubertate.

Analiza modului de transmitere demonstrează intervenția unei gene dominante pleiotrope cu o penetranță înaltă și expresivitate variabilă (expresivi-

tatea este gradul expresiei fenotipice a unei gene; ea poate fi ușoară, intermediară sau severă).

Faptul că tumorile apar pe suprafețele cutanate expuse la soare demonstrează că acțiunea genei dominante nu este suficientă pentru inducerea efectului oncogen și că trebuie să intervină și un alt eveniment.

În cazul sindromului pot să apară și alte tumori, mai ales meduloblastoame și fibroame ovariene. Aplicarea radiațiilor în scop terapeutic pe craniu induce apariția unui număr mare de carcinoame bazocelulare pe câmpul de iradiere, ceea ce pledează în favoarea ideii că radiația a indus o a doua mutație în celulele deja purtătoare ale primei mutații, iar din celulele dublu mutate se dezvoltă tumori.

— *Carcinoame pavimentoase cu vindecare spontană tip Fergusson-Smith.* Această dermatoză rară se caracterizează prin prezența unor neoplasme cutanate multiple, localizate pe față, urechi, brațe și picioare, al căror aspect histologic este identic cu al carcinoamelor pavimentoase, dar care se vindecă spontan după o evoluție de câteva luni.

Majoritatea cazurilor au un caracter familial, iar transmiterea se face în mod autosomal-dominant.

— *Melanoamele ereditare* se înscriu cu 1—6% din totalul cazurilor. Apar la o vîrstă mai tîrîră decît cazurile neereditare și sînt adesea multiple. Mecanismul genetic implică intervenția unei gene care manifestă un oarecare grad de dominanță.

3.7.4.

Cancerul mamar

Rezultatele unor statistici efectuate pe un număr impresionant de cazuri demonstrează că rudele bolnavelor cu cancer mamar fac boala cu o incidență de 2—3 ori mai mare decît lotul martor.

Cancerul mamar se poate asocia cu sindromul Cowden, caracterizat prin fibromatoza gingiilor, a cărei transmitere este autosomal — dominantă. În acest caz, cancerul survine adesea în premenopauză și este bilateral. Surorile femeilor bolnave ale căror mame au fost de asemenea afectate prezintă un risc de cel puțin 30%.

În familiile în care există o ereditate dominantă a cancerului mamar, gena mutantă poate fi transmisă de bărbați sănătoși. Au fost descrise și familii în care și bărbații au fost afectați.

În unele familii, cancerul mamar se asociază cu alte tipuri de cancer, sugerînd transmiterea dominantă a unei gene cu o specificitate mai largă decît în mod obișnuit. În aceste cazuri, cancerul mamar este tumoarea cea mai frecvent observată, dar există și un exces de leucemii, sarcoame, tumori cerebrale și cancere pulmonare, pancreatice sau cutanate.

3.7.5.

Cancerele tubului digestiv

— *Polipoza familială a colonului.* Cancerul intestinului gros este a doua cauză de deces în Statele Unite, fiind precedat numai de cancerul pulmonar. În cazul cancerului de colon există mai multe forme ereditare distincte, cea mai importantă fiind polipoza familială, care constă într-o tapetare difuză cu



polipi a colonului și a rectului. Transmiterea se face în mod autosomal-dominant. Simptomele debutează în jurul vârstei de 30 de ani, iar moartea survine în jurul vârstei de 40 de ani, deci considerabil mai repede decât în cazul carcinomelor de colon la populația generală (vârsta medie în momentul decesului: 68 de ani).

Defectul primar nu este cunoscut în cazul polipozei, dar studiul sintezei ADN a relevat câteva date interesante. Celulele de pe suprafața mucoasei normale nu încorporează, spre deosebire de celulele din cripte, timidină tritiată, ceea ce înseamnă că diferențierea și migrarea celulelor din cripte spre suprafață este însoțită de represia sintezei de ADN. În celulele polipilor, atât a celor apăruiți în cadrul polipozei familiale, cât și al celor neereditari, are loc, după cum era de așteptat, sinteza de ADN. Este însă interesant faptul că la bolnavii cu polipoză familială, pe suprafața mucoasei normale, care nu participă la polipoză, există zone în care sinteza ADN nu este represată. Din aceste celule se dezvoltă polipi și, ulterior, cancere.

— *Sindromul Gardner* este o entitate genetică a cărei caracteristică o constituie polipii multipli ai colonului și, ocazional, ai intestinului subțire, chisturi sebacee și epidermoide, fibroame și desmoide, osteoame ale oaselor faciale. Tendința la cancere ale colonului este extrem de ridicată.

Transmiterea este autosomală-dominantă, iar gena mutantă are un grad înalt de penetranță.

— *Sindromul Peutz-Jeghers*, entitate genetică relativ rară, caracterizată printr-o pigmentare melanică a mucoasei bucale, a buzelor, feții și degetelor, se asociază adesea cu polipi, în primul rând ai intestinului subțire, dar și ai altor regiuni ale tractului gastro-intestinal. Riscul de transformare malignă a polipilor este mai mic decât în cazul polipozei familiale a colonului și a sindromului Gardner. Transmiterea este dominantă.

— *Cancerul gastric*. Cercetări genetice au arătat că frecvența cancerului gastric este de 2—4 ori mai mare la rudele de gradul I ale bolnavilor cu cancer gastric decât la populația martoră. În mai multe familii, cancerul gastric a apărut de-a lungul mai multor generații, sugerând o ereditate dominantă.

Studii recente au arătat asocierea dintre cancerul gastric și gastrita atrofică familială. Pe de altă parte, investigații imunologice efectuate asupra unor familii cu cancer gastric au demonstrat frecvența mare a anticorpilor față de celulele gastrice parietale. Aceste date sugerează o patogeneză autoimună a gastritei atrofice și a anemiei pernicioase, ultima fiind corelată cu cancerul gastric. Menționăm, în sfârșit, frecvența crescută a cancerului gastric la persoanele cu grupă sangvină A.

— *Cancerul esofagului* se asociază adesea cu tiloza, o keratoză palmo-plantară cu transmitere dominantă.

— *Cancerul pancreatic*. Au fost descrise cancere pancreatice asociate cu pancreatita cu ereditate dominantă.

— *Cancerul hepatic* apare cu o frecvență crescută la bolnavii cu ciroză hepatică. Recent, s-a demonstrat asocierea dintre ciroză și deficiența α_1 -antitripsinei, o anomalie transmisă în mod recesiv, care se asociază cu un emfizem. Hepatoamele au fost observate și în unele familii în asociere cu antigenul Australia. În aceste cazuri, transmiterea agentului viral se face de la mamă la descendenți; susceptibilitatea la persistența virusului ar putea fi moștenită ca o trăsătură recesivă.

3.7.6.

Sindromul cancerelor familiale (adenocarcinomatoza ereditară, sindromul cancerelor multiple)

Warthin a descris familii caracterizate prin prezența unor neoplazii în diferite organe. Tumorile, histologic adenocarcinoame, interesează mai ales colonul și endometrul, mai rar stomacul, ocazional ovarele. Purtătorii genei dezvoltă de obicei mai multe cancere, care apar în jurul vârstei de 40 de ani, deci cu aproximativ două decenii mai timpuriu decât tipurile care survin în mod sporadic în populația generală.

Transmiterea este compatibilă cu intervenția unei gene mutante dominante cu o penetranță înaltă.

3.7.7.

Cancerle genito-urinare

— *Cancerul colului uterin* este datorat în primul rând factorilor de mediu. Nu există dovezi certe în favoarea intervenției unei componente ereditare.

— *Cancerul corpului uterin*. După cum am menționat deja, cancerul corpului uterin este o trăsătură esențială a sindromului cancerelor familiale. Există însă și familii în care cancerul endometrial, transmis în mod dominant, este tumoarea principală.

Sindromul Stein-Leventhal, caracterizat prin amenoree, hirsutism, obezitate și chisturi ovariene, se însoțește adesea (38%) de cancere endometriale. Transmiterea sindromului Stein-Leventhal se face în mod dominant.

— *Cancerul prostatei*. Există date care sugerează că frecvența cancerului prostatei este mai mare la rudele de sex masculin ale bolnavilor cu cancer de prostată, dar elementele existente nu sînt suficient de convingătoare.

— *Tumorile testiculare*. Existența unei predispoziții genetice este certă, dar ea nu pare specifică pentru un anumit tip de tumoare. În unele familii, seminoamele, carcinoamele embrionare și teratoamele sau teratocarcinoamele pot să apară în mod concordant (adică membrii afectați ai familiei prezintă tumori cu același aspect histologic), dar au fost observate și numeroase cazuri discordante. Coexistența acestor tumori în cadrul unei familii, sau chiar în interiorul aceleiași mase tumorale susține ideea unei origini comune din celulele germinale.

Modul de transmitere este compatibil cu intervenția unei gene dominante, care este adesea nou mutată sau premutată.

— *Tumorile ovariene*. Teratoamele (chisturile dermoide) și terato-carcinoamele ovariene au uneori un caracter familial și manifestă o transmitere dominantă. A fost semnalată, de asemenea, apariția familială a arrhenoblastoamelor, care se pot asocia cu adenoame tiroidiene.

Chisturile și fibroamele ovariene pot să apară în cadrul sindromului nevoid bazocelular, iar carcinoamele ovariene sînt o componentă a sindromului cancerelor familiale. Există însă și cazuri în care cancerle ovariene au fost transmise în mod dominant ca tumori unice.

— *Tumorile rinichiului și vezicii urinare*. Au fost citate agregări familiale ale hipernefroamelor și ale cancerului vezicii urinare, dar datele existente sînt insuficiente pentru a permite formularea unor concluzii ferme.

Cancerul pulmonar

Cancerul pulmonar constituie boala secolului XX, fiind principala cauză de deces prin cancer din S.U.A. Deși fumatul este factorul etiologic principal, rolul factorilor genetici nu este neglijabil. În acest sens, cercetări recente au arătat că frecvența cancerului pulmonar este de două ori mai mare la rudele bolnavilor decât la martori. Efectele fumatului și ale factorilor genetici sînt sinergice: persoanele care au rude afectate și care fumează prezintă un risc de 14 ori mai mare.

Natura predispoziției genetice nu este cunoscută. O explicație ar putea fi dată de existența unei susceptibilități crescute a ADN față de carcinogenii din mediul înconjurător, o problemă pe care am menționat-o în cadrul discuției despre ataxie-teleangiectazie. O a doua explicație e dată de intervenția unui control genetic al conversiunii unor agenți necancerigeni din mediu în agenți cancerigeni. S-a demonstrat că activitatea unei astfel de enzime, aril-hidrocarbon-hidroxilaza, care convertește mulți cancerigeni chimici dintr-o stare proximală inactivă într-o stare finală activă, prezintă variații individuale. S-a sugerat că fumătorii cu o activitate înaltă a acestei enzime au un risc mai mare decât fumătorii cu o activitate enzimatică redusă.

Fibroza pulmonară tip Hamman-Rich, cu transmitere autosomală-dominantă, se poate asocia cu cancerul pulmonar.

Sistematizînd datele existente Knudson (21, 22) presupune că tumoarea malignă pulmonară poate surveni la patru grupe de persoane:

- un grup predispus genetic, la care factorii mediului înconjurător joacă un rol neglijabil, cum este cazul fibrozei pulmonare ereditare;

- un grup la care contribuie atît factorii genetici, cît și factorii de mediu;

- un grup la care factorii de mediu, fumatul de exemplu, acționează în absența oricărei predispoziții genetice;

- un grup la care nici factorii de mediu, nici factorii genetici nu joacă un rol semnificativ și la care pot predomina mutațiile spontane.

Majoritatea cazurilor de cancer pulmonar par să se încadreze în grupa a doua și a treia.

Tumorile nervoase

Neurofibromatoza (boala von Recklinghausen), o afecțiune transmisă în mod dominant, predispune la apariția feocromocitoamelor, neuro-fibrosarcomelor, meningioamelor și gliomelor. Sindromul nevoid bazocelular predispune la apariția meduloblastoamelor.

Glioamele pot avea un caracter familial. Uneori, glioamele apărute în cadrul unei anumite familii au un aspect histologic similar, alteori aspectul histologic este diferit: glioblastoame, astrocitoame, oligodendroglioame, ependimoame.

Meningioamele se pot concentra, de asemenea, în unele familii.

3.7.10.

Leucemiile, limfoamele și mielomul multiplu

Despre unele stări genetice care predispun la apariția leucemiilor și a limfoamelor (sindromul Down, sindromul Bloom, anemia Fanconi, ataxia-teleangiectazia, imunodeficiențele) s-a discutat în paragrafele anterioare. Existența unei predispoziții pentru leucemie și limfoame se poate însă manifesta și în afara acestor sindroame. Astfel, în cazul leucemiilor infantile, concordanța gemenilor monoziгоși este de 25%. Rudele de gradul I ale bolnavilor cu leucemie au un risc crescut. Afirmatia este valabilă pentru leucemia limfocitară cronică și, în mai mică măsură, pentru leucemiile acute. În majoritatea cazurilor, membrii afectați sînt frați, dar au fost publicate și observații de transmitere verticală.

Există numeroase familii în care au fost semnalate cazuri multiple de limfoame. Mielomul multiplu poate, de asemenea, să aibă un caracter familial. Rudele bolnavilor pot să prezinte paraproteinemii asimptomatice.

3.8.

Mutațiile și cancerul

Dacă termenului de mutație i se atribuie un sens larg (adică orice modificare a materialului genetic, indusă de un factor fizic, chimic sau viral), putem afirma că mutațiile sînt implicate în transformarea unei celule normale într-o celulă canceroasă. Putem admite că mutațiile canceroase survin, cu o anumită rată spontană, în celulele somatice și germinale. Această rată poate fi crescută de agenții de mediu, precum și în afecțiunile genetice caracterizate prin defecte ale reparării ADN.

Pentru a explica creșterea incidenței cancerului în raport cu vîrsta, Fisher și Holtzman au sugerat că transformarea malignă necesită *mutații multiple ale aceleiași celule*. Numărul mutațiilor necesare nu este cunoscut, dar leucemiile și limfoamele, sarcoamele și tumorile cerebrale necesită probabil două evenimente, iar cancerul tubului digestiv, trei. Oricare ar fi numărul de mutații necesare, el este redus cu 1 în cazul *cancerelor ereditare*, deoarece în aceste situații organismul poartă, din momentul concepției, prima mutație. După cum am văzut, acest fapt explică precocitatea apariției și multiplicitatea *cancerelor ereditare*.

Din această expunere reiese clar faptul că rolul gazdei în etiologia cancerului depinde de *interacțiunea dintre factorii genetici și mediu*. Nu trăsăturile sau caracteristicile, fie ele normale sau patologice, se moștenesc. Numai materialul genetic, cu alte cuvinte setul de reacții potențiale ale individului față de influențele mediului este ereditar.

Revenind la cancer, recunoaștem la o extremitate boli datorate unor alterații genice (mutații) care, aparent, își exercită efectul în toate condițiile cunoscute de mediu. La cealaltă extremitate se găsesc cancerul induse de factorii de mediu, unde rolul genotipului poate fi detectat numai cu ajutorul metodelor statistice și, uneori, nici chiar în acest fel. Majoritatea cancerelor sînt rezultatul interacțiunii complexe dintre genotip și mediu, dar participarea lor în diferite tipuri specifice de tumori este numai în mică măsură cunoscută.

Bibliografie

- ANDERSON D. E. — Genetic varieties of neoplasia. In *Genetic Concepts and Neoplasia*, Williams and Wilkins, Baltimore, 1970, p. 85–109
- ATKIN N. B. — Chromosomes in human malignant tumours: a review and assessment. In *Chromosomes and Cancer*, sub red. J. German, Wiley and Sons, New York, 1974, p. 375–422
- ATKIN N. B. — Cytogenetic aspects of malignant transformation, S. Karger, Basel, 1976
- ATKIN N. B., BRITO-BABAPULLE V. — *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1981, 3, 261–272
- BALABAN-MALENBAUM G., GILBERT F. — *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1980, 2, 339–348
- BERNSTEIN R., MORCOM G., PINTO M. R., MENDELOW B., DIKES I., PENFOLD G., BEZWODA W. — *Cancer Genet. Cytogenet.* 1980, 2, 23–37
- BIEDLER J., ROSS R. A., SHANSKE S., SPENGLER B. A. — Human neuroblastoma cytogenetics: search for significance of homogeneously staining regions and double minute chromosomes. In *Advances in Neuroblastoma Research*, sub red. E. A. Evans, Raven Press, New York, 1980, p. 81–96
- BORGSTRÖM G. G. — *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1981, 3, 19–31
- BORGSTRÖM G. H., TEERENHOVI L., VUOPIO P., ANDERSSON L. C., KNUUTILA S., ELONEN E., Dr. LA CHAPPELLE A. — *Scand J. Haematol.*, 1981, 26, 241–251
- CHANG T. D., BIEDLER J. L., STOCKERT E., OLD L. J. — *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 1977, 18, 225
- CHIRICUȚĂ I. — Cancerul, boală moleculară, În „Biologia moleculară și medicina modernă”, Ed. Medicală, București, 1969, p. 323–275
- DOFUKU R., BIEDLER J. L., SPENGLER B. A., OLD J. L. — *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 1975, 72, 1515–1517
- FIALKOW P. J. — Genetic marker studies in neoplasia, in „Genetic Concepts and Neoplasia”. Williams and Wilkins, Baltimore, 1970, p. 112–130
- FRAISSE J., LENOIR G., VASSELON C., JAUBERT J., BRIZARD C. P. — *Cancer Genet Cytogenet.*, 1981, 3, 149–153
- GAHRTON G., ROBERT K. H., FRIBERG K., ZECH L., BIRD A. G. — *Blood*, 1980, 56, 640–647
- GARTLER S. M. — Utilization of mosaic systems in the studies of the origin and progression of tumours, In: „Chromosomes and Cancer”, sub red. J. German, Wiley and Sons, New York, 1974, p. 613–634
- GERMAN J. — Bloom's syndrome, In: „Chromosomes and Cancer”, sub red. J. German, Wiley and Sons, New York, 1974, 601–618
- GOLOMB H. M. — *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1980, 1, 249–256
- HARNDEN D. G. — Ataxia telangiectasia syndrome: cytogenetic and cancer aspects, In: „Chromosomes and Cancer”, sub red. J. German, Wiley and Sons, New York, 1974, p. 619–636
- HAYATA I., ISHIIHARA T., HIRASHIMA K., SADO T., YAMAGIWA J. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1979, 63, 843–848
- KNUDSON A. G. — Genetics and etiology of human cancer, In: „Advances in human Genetics”, vol. 8, sub red. H. Harris, K. Hirschhorn, Plenum Publishing Corp., 1977, p. 1–86
- KNUDSON A. G., STRONG L. C., ANDERSON D. E. — *Progr. Med. Genet.*, 1973, 9, 113–158
- KOHNO S., ABE S., SANDBERG A. A. — *Amer. J. Hematol.*, 1979, 7, 281–291
- KURITA Y., SUGIYAMA T., NISHIZUKA Y. — *Cancer Res.*, 1968, 28, 1738–1752
- LAWLER S. D. — Cancer. In: *Clinical Genetics*, sub red. A. Sorsby, ed. a 2-a Butterworth, Londra, 1974, 568–589
- LEVAN G., AHLSTROM U., MITELMAN F. — *Hereditas (Lund)* 1974, 77, 263–280
- LEVAN A., LEVAN G., MITELMAN F. — *Hereditas (Lund)*, 1977, 86, 15–30
- LEVAN G., MITELMAN F. — *Hereditas (Lund)*, 1976, 84, 1–14
- LIANG W., HOPPER J. E., ROWLEY J. D. — *Cancer*, 1979, 44, 630–644
- LYNCH H. T., KAPLAN A. R. — Cancer genetics problems. Host-environmental consideration. In: *Progr. Exp. Tumor Res.*, vol. 19, Karger, Basel, 1974, p. 333–352
- MANOLOV G., MANOLOVA Y. — *Hereditas (Lund)*, 1971, 69, 300
- MARK J. — The human meningioma: a benign tumour with specific chromosome characteristics, In: „Chromosomes and Cancer”, sub red. J. German, Wiley and Sons, New York, 1974, p. 497–517
- MARK J., DAHLENFORS R., EKENDAHL C. — *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1979, 1, 39–56
- MARK J., DAHLENFORS R., EKENDAHL C. — *Anticancer Res.*, 1981, 1, 49–57

4. **Morfologia tumorilor maligne**

V. GĂDĂLEANU

Cuprins

- 4.1. Definiție — Istoric — 140
- 4.2. Clasificarea și nomenclatura tumorilor — 141
 - 4.2.1. Criterii de clasificare — 141
 - 4.2.2. Principalele categorii de tumori — 142
- 4.3. Caracterele morfologice și biologice ale tumorilor — 146
 - 4.3.1. Aspecte macroscopice — 146
 - 4.3.2. Aspecte histo-arhitecturale — 147
 - 4.3.3. Caractere citologice — 148
 - 4.3.4. Ritmul creșterii tumorilor — 150
 - 4.3.5. Creșterea locală și invazia tumorală — 150
 - 4.3.6. Metastazarea — 154
 - 4.3.7. Caracteristici funcționale — 156
 - 4.3.8. Efectele tumorilor asupra organismului — 157
 - 4.3.9. Evoluția tumorilor maligne — 158
- 4.4. Diagnosticul anatomo-patologic al cancerelor — 160
 - 4.4.1. Metode de diagnostic anatomo-patologic — 161
 - 4.4.2. Diagnosticul pozitiv și diferențial al tumorilor — 163
- 4.5. Prognosticul anatomo-patologic al cancerelor. Grading și stadializare histopatologică — 166
 - 4.5.1. Aspectul macroscopic al tumorilor — 166
 - 4.5.2. Tipul histologic — 168
 - 4.5.3. Invadarea vaselor sangvine și limfatice — 171
 - 4.5.4. Extinderea parietală a tumorilor organelor tubulare — 171
 - 4.5.5. Reacția stromei tumorale — 173
 - 4.5.6. Ritmul de creștere a tumorilor — 174
 - 4.5.7. Grading-ul histo-citologic — 174
 - 4.5.8. Invazia ganglionilor limfatici loco-regional — 179
 - 4.5.9. Modificările histologice ale ganglionilor limfatici sateliți — 180
 - 4.5.10. Stadializarea TNM a cancerelor — 181

4.1.

Definiție — istoric

Tumorile reprezintă neoformații tisulare care iau naștere printr-o proliferare celulară anormală. Această creștere patologică depășește dezvoltarea țesuturilor normale, se sustrage mecanismelor de homeostazie ale creșterii tisulare și persistă după încetarea acțiunii factorilor inductori, manifestând în consecință autonomie biologică în raport cu organismul. Spre deosebire de

proliferarea din inflamații sau regenerare, care are caracter reactiv și se integrează în procesele de apărare și adaptare ale țesuturilor, proliferarea tumorală este primitivă, nelimitată și nu numai inutilă, ci și dăunătoare organismului.

Termenul de tumoare derivă din cuvântul latinesc „tumor” (umflătură), care desemna orice tumefacție tisulară, indiferent de natura acesteia (neoplazică, inflamatorie, hiperplazică, circulatorie etc.). În accepțiunea actuală, termenul de tumoare este utilizat ca sinonim al neoplasmului, neoplaziei, neoformației, derivând din cuvintele grecești: de neos=nou; plassein=a forma; plasis=formare, și etichetează dezvoltarea unui țesut cu caractere noi, diferite de cele ale țesuturilor organismului purtător. (Ackerman, 1964; Maissner și Diamandopoulos, 1977; Robbins, 1974).

Primele mențiuni scrise despre existența tumorilor la specia umană le găsim în manuscrisul Ramayana (aprox. 2 000 î.e.n.), în papirusurile vechilor egipteni (1 500 î.e.n.), în inscripțiile cuneiforme ale bibliotecii din Ninive (800 î.e.n.). Hippocrat din Cos (460—370 î.e.n.), considerat părintele medicinei, este primul care a împărțit tumorile în funcție de comportament, în tumori: „inofensive” și „periculoase”. De numele lui se leagă termenul de carcinom, în original karkinoma (derivat din grecescul karkinos=crab), prin care desemna tumorile solide maligne. Ulterior, din echivalentul latin al acestui cuvânt, „cancrum”, s-a format termenul de cancer, care desemnează în mod generic tumorile maligne.

Într-o monografie despre tumori, Galenus (131—201), elaborează ceea ce am numi în prezent prima teorie de etiopatogeneză a cancerului, atribuit excesului bilei negre. Aceluiași autor îi aparține introducerea termenului de sarcom, derivat din cuvântul grecesc „sarkos” (carne), rezervat tumorilor al căror aspect macroscopic sugerează carnea de pește nefiert.

Descoperirea microscopului și punerea bazelor histologiei de către Malpighi (1628—1694) au constituit momente de răscruce în evoluția cunoștințelor medicale. Teoria conform căreia celulele noi se formează prin diviziunea altor celule, „omnis cellula e cellula” elaborată de Rudolf Virchow (1821—1902), a revoluționat gândirea medicală situându-se la originea patologiei moderne. Pe această concepție se bazează de altfel și clasificarea actuală a tumorilor. (Meissner și Diamandopoulos, 1977).

Toți marii anatomo-patologi au adus contribuții substanțiale la dezvoltarea științei oncologice. Printre savanții români se distinge Victor Babeș (1854—1926), întemeietor al școlii de patologie din România, care printre alte contribuții importante în descifrarea proceselor morbide a formulat noțiunea de stare sau leziune precanceroasă.

4.2.

Clasificarea și nomenclatura tumorilor

4.2.1.

Criterii de clasificare

Clasificarea tumorilor se poate face pe baza mai multor criterii, cele mai folosite fiind criteriile biologic și histologic.

Primul criteriu de clasificare a tumorilor ia în considerație comportamentul lor biologic, cunoscut sau anticipat, în funcție de care le desparte în două grupe: benigne și maligne.

Tumorile benigne sau „de bună natură” sînt relativ inofensive, caracterizîndu-se prin creștere lentă, evoluție strict locală, delimitare netă față de țesuturile normale, recidive excepționale și înalt grad de diferențiere histo-citologică.

Tumorile maligne sau „de rea natură”, denumite generic cancere, au în general acțiune nefavorabilă asupra organismului; netratate, determină frecvent moartea bolnavului. Se caracterizează printr-o creștere rapidă, invazie locală, diseminare regională, și la distanță, recidive postoperatorii, iar structural, printr-o relativă lipsă de diferențiere celulară (Cabanne și Bonenfant, 1980).

Clasificarea histologică se bazează în esență pe caracteristicile microscopice ale tumorilor, respectiv pe identificarea tipurilor de celule din care sînt constituite acestea, ca și a tabloului lor histo-arhitectural. În principiu această clasificare urmează clasificarea țesuturilor normale, fiind aplicabilă în special tumorilor care se dezvoltă din țesuturile distincte.

În practica prosectorială curentă se utilizează o combinație a celor două clasificări, nomenclatura incluzînd referiri la originea histologică și comportamentul biologic al tumorilor (Meissner și Diamandopoulos, 1977).

4.2.2.

Principalele categorii de tumori

Tumorile mezenchimale se clasifică cu exactitate prin criteriul histologic, dat fiind caracterul distinct al celulelor adulte de origine mezenchimală și asemănarea remarcabilă a celulelor tumorale cu corespondentele lor normale. Din aceleași motive, denumirile lor se formează facil prin adăugarea sufixului „om” (omo=umflătură, în limba greacă) la numele tipului de țesut sau celule din care sînt formate tumorile benigne, respectiv a sufixului sarcom, în cazul tumorilor maligne.

Din categoria tumorilor mezenchimale fac parte: tumorile țesuturilor conjunctive fibroase (fibroame — fibrosarcoame) (fig. 4.1), musculare netede (leiomioame — leiomiosarcoame), musculare striate (rabdomioame — rabdomiosarcoame), cartilaginoase (condroame — condrosarcoame) (fig. 4.2.), osoase

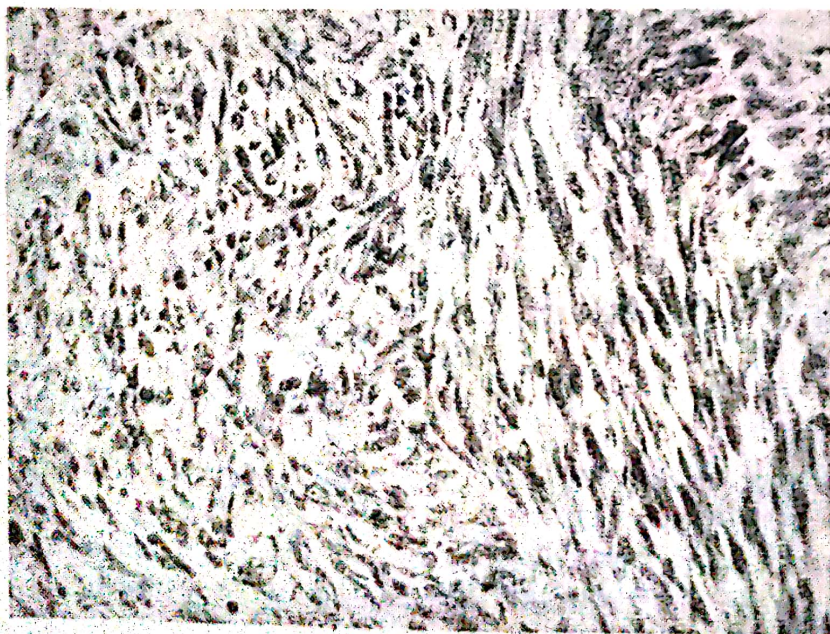
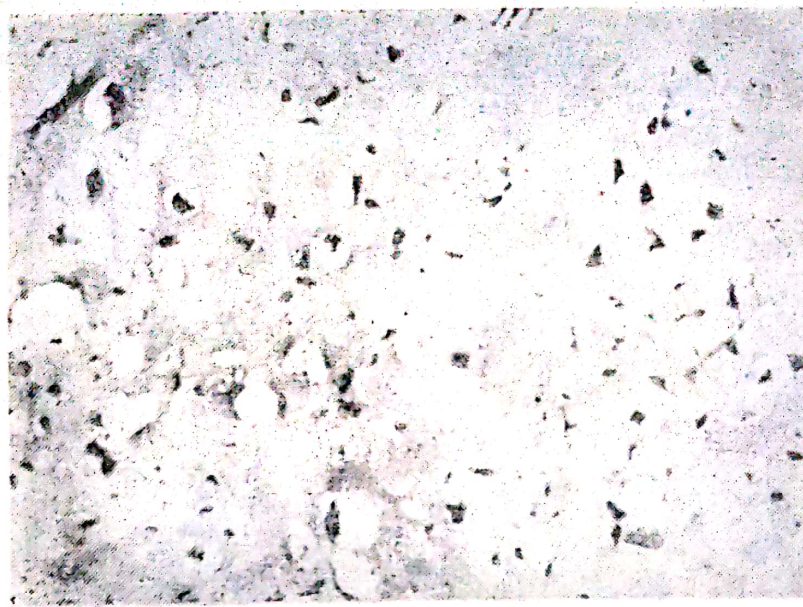


Fig. 4.1. — Fibrosarcom bine diferențiat, H-E, 70×.

Fig. 4.2. — Condrosarcom,
H-E, 140×.



(osteoame — osteosarcoame), adipoase (lipoame — liposarcoame), mixomatos (mixosarcoame), vasculare sangvine (angioame — angiosarcoame), sinovici (sinoviosarcoame), mezoteliilor cavităților preformate (mezoteliosarcoame), țesuturilor hematoformatoare (leucemii) și limfoide (limfoame).

Tumorile epiteliale, spre deosebire de precedentele, au o nomenclatură mult mai variată. Adenoamele sînt tumorile benigne ale epitelilor secretante cubo-cilindrice sau cele care prezintă structură glandulară. Variantele lor, chistadenoamele și adenoamele papilifere sînt definite în raport cu detaliile histo-arhitecturale.

Polipii și papiloamele definesc în termeni macroscopici tumorile benigne cu structură variată, dezvoltate pe suprafețele tapetate de epitelii cubo-cilindrice și respectiv pavimentoase și tranzitionale (epiteliul tranzitional este un epiteliu de tip particular, care căptușește vezica urinară și căile urinare, fiind denumit și uroteliu). Polipii sînt fungiformi, pediculați, cu suprafață netedă, pe cîtă vreme papiloamele sînt vegetante, neregulate, alcătuite dintr-o multitudine de formațiuni exofitice, mai adesea sesile, cu bază largă de implantare.

Principalele categorii de tumori epiteliale maligne, cunoscute sub denumirea de carcinoame, sînt: — adenocarcinoamele (fig. 4.6; 4.21; 4.17), corespundentele maligne ale adenoamelor; — carcinoamele pavimentoase, dezvoltate din epiteliile de înveliș pavimentoase sau din alte epitelii, care au suferit metaplazie pavimentoasă; — carcinoamele tranzitionale, descrise în ultimul timp, pe lîngă vezica urinară și la căile respiratorii superioare, în special în laringe; — carcinoamele nediferențiate, formate din celule asemănătoare elementelor embrionare, primitive, (fig. 4.4) din care cauză histogeneza sau sediul de origine nu pot fi precizate exclusiv prin examen microscopic.

Termenul de carcinom poate fi utilizat în denumirea tumorilor epiteliale maligne fie independent, alături de tipul țesutului implicat (carcinom tiroidian), fie ca sufix, cum este în cazul neoplasmului placentei — coriocarcinom.

Tumorile epiteliale maligne poartă și denumiri speciale, în funcție de caracterele morfologice ale celulelor, de dimensiune (carcinoame cu celule mici,

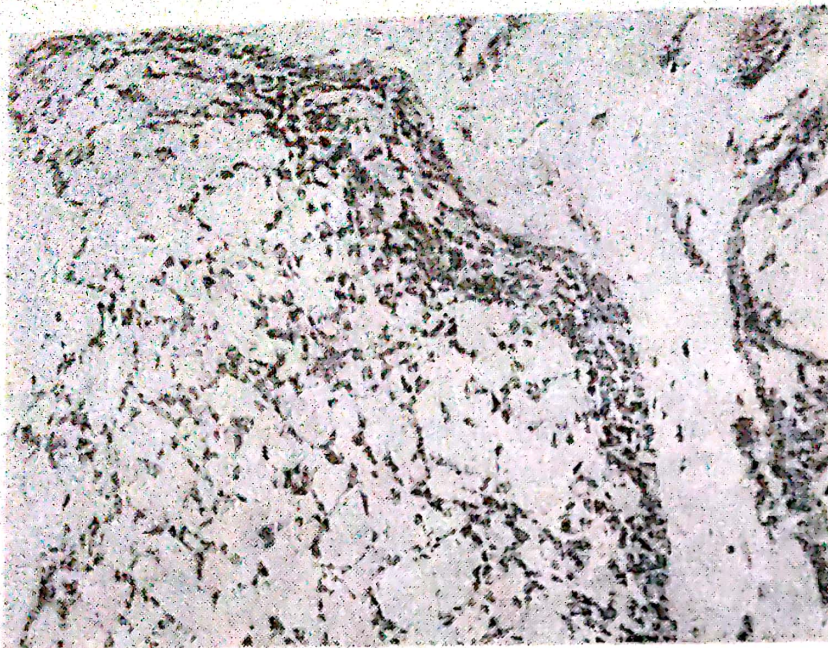


Fig. 4.3. — Carcinom medular tiroidian, depunere de abundant material amiloid, H-E, 70×.

cu celule gigante), de formă (carcinoame cu celule în bob de ovăz), de colorație (carcinoame cu celule clare), de proprietățile funcționale (carcinoame secretante), de histo-arhitectura parenchimului [carcinoame trabeculare (fig. 4.19), foliculare (fig. 4.15), acinoase, medulare (fig. 4.3)], de gradul de diferențiere celulară [carcinoame bine diferențiate (fig. 4.17), nediferențiate (fig. 4.4)], de invazivitate [carcinoame intraepiteliale (fig. 4.7), microinvazive], de structura stromei (carcinoame schiroase, limfoepitelioame) etc.

Multe din tumorile maligne epiteliale, ca de altfel și unele sarcoame și tumori mixte, sînt etichetate prin eponime, ca de exemplu: tumoarea Krukenberg (metastază carcinomatoasă a ovarului), Grawitz (hipernefrom), Schmincke (limfoepiteliom al căilor respiratorii superioare), Hürthle (carcinom tiroidian cu celule oncocitare) etc.

Tumorile de origine neuroectoblastică grupează tumorile: nevroglii (glioame), endimului (ependimoame), plexurilor coroide, meningelui (meningioame), ganglionilor nervoși (simpatoame, ganglioneuroame), chemoreceptorilor vasculari (chemodectome), tecilor nervilor periferici (neurilemoame, neurofibroame), țesutului melanic (nevi, melanoame maligne).

Din această categorie mai fac parte apudoamele, tumori ale sistemului APUD. Denumirea, dată de Pearse în 1966, s-a format din inițialele cuvintelor ce definesc în limba engleză proprietățile biologice și biochimice ale celulelor sistemului „Amine Precursors Uptake and Decarboxylation”. În virtutea proprietății de a capta precursori aminici și de a-i decarboxila, celulele sistemului pot secreta amine cu efecte vasoactive și hormonale, responsabile de diversele tulburări clinice care însoțesc apudoamele.

Pînă la ora actuală au fost identificate cîteva zeci de celule APUD cu originea în creasta neurală, care intră în alcătuirea unor glande endocrine sau sînt dispersate în mucoasele tubului digestiv, tractului respirator etc. Spre exemplificare cităm (tabelul 4.I) cîteva apudoame și celulele aflate la originea acestora.

Valoarea deosebită a conceptului APUD constă în faptul că recunoscînd apudoamelor aptitudinea de a secreta oricare din aminele biogene sau hormonii polipeptidici proprii celulelor acestui sistem, se explică producerea de hor-

APUDOAME ȘI CELULELE AFLATE LA ORIGINEA ACESTORA

TABELUL 4.1

Tumoare	Organ	Celule de origine	Secreție
Adenoame	Hipofiză	beta beta ₁ delta	TSH ACTH FSH-LH
Carcinom medular	Tiroidă	parafoliculare, C	Calcitonină
Feocromocitom	Medulosuprarenală	feocromocite	Adrenalină
Simpatoblastom	Medulosuprarenală	simpatoblaști	Serotonină
Glucagonom	Insulă pancreatică	alfa	Glucagon
Insulinom	Insulă pancreatică	beta	Insulină
Gastrinom	Stomac	G	Dopamină
Gastrinom	Stomac	D	Gastrină
Gastrinom	Stomac	D ₁	Somatostatina
Carcinoid	Stomac	EC-enterocromafine	VIP-peptidă intestinală vasoactivă
Carcinoid	Intestin	EC	Serotonină
Tumoare glomică	Glomus carotidian	I	Serotonină și catecolamine

moni ectopici și în consecință, manifestările clinice cele mai neașteptate pentru tumoarea dintr-o anumită localizare. Unitatea existentă între componentele sistemului APUD explică de asemenea asocierea la același bolnav a unui număr variabil de tumori endocrine, asociere consacrată în literatura de specialitate sub denumirea de adenomatoză endocrină multiplă (MEA). În prezent se disting două astfel de adenomatoze: MEA I, formată prin asocierea la tumorile de hipofiză, paratiroidă, corticosuprarenală și pancreas a ulcerului gastric, și MEA II, alcătuită din carcinoame medulare tiroidiene și feocromocitoame, însoțite uneori de alte adenoame endocrine și neurofibroame cutanate.

Celulele secretante de hormoni peptidici, dispersate în mucoasa tractului digestiv, respirator și în alte țesuturi enunțate anterior, alcătuiesc așa numitul „sistem endocrin difuz” fundamentat în 1938 de Feyter.

Tumorile embrionare (disembrioplazice). O primă categorie de tumori embrionare o constituie tumorile care amintesc de un țesut embrionar sau de un blastom. Denumirea acestora se formează prin adăugarea sufixului „blastom” (blastos: germene, în limba greacă) la numele țesutului în cauză, ca de exemplu, nefroblastom, hepatoblastom etc. Termenul de *blastom* este utilizat în oncologie și pentru definirea tumorilor cu celule foarte nediferențiate, în special ale țesutului nervos, cum sînt: neuroblastomul, retinoblastomul, simpatoblastomul, glioblastomul și altele.

Teratoamele constituie categoria cea mai bine reprezentată a tumorilor disembrioplazice. Sînt formate din țesuturi multiple, dispuse haotic, fără legătură cu structurile regiunii în care se dezvoltă, aflate în diferite stadii de diferențiere, derivate din două sau toate cele trei foițe embrionare, fiind considerate în mod justificat, tumori compuse. În funcție de gradul de diferențiere a țesuturilor componente se împart în teratoame imature, maligne (teratocarcinoame), grup care include coriocarcinomul și teratoame mature, adulte, cu comportament benign.

Tumorile mixte. Sub această denumire sînt reunite tumorile formate din mai multe tipuri de celule, care au luat naștere prin diferențierea divergentă

a unei singure categorii de celule tumorale, derivate la rîndul lor dintr-o singură foiță embrionară. În funcție de structura lor histo-patologică tumorile mixte se subclasifică în următoarele grupe:

— *tumori mixte epiteliale*, cum sînt de exemplu adeno-acantocarcinoamele, formate dintr-un proliferat glandular și epidermoid;

— *tumori mixte mezenchimale*, de tipul mio-fibroamelor, fibro-lipoamelor, osteo-condroamelor etc., formate din structuri tisulare aflate în relații histogenetice. Ele trebuie distinse de așa-numitele mezenchimoame, care sînt formate din două sau mai multe țesuturi mezenchimale ce nu se găsesc în relații histogenetice, niciuna din componentele tumorilor neputînd lua naștere prin diferențierea altei componente. Un exemplu concludent de mezenchinom îl reprezintă angio-mio-lipoamele;

— *tumori mixte epiteliale și mezenchimale*, exemplificate de adenoamele pleiomorfe de glandă salivară, adeno-sarcoamele uterine (tumori botrioide), carcino-sarcoamele renale (tumori Wilms). (Ackerman, 1964; Ashley, 1978; Cabanne și Bonenfant, 1980; Meissner și Diamandopoulos, 1977; Moraru și Nicolescu, 1980; Robbins, 1974).

4.3.

Caracterele morfologice și biologice ale tumorilor

4.3.1.

Aspecte macroscopice

Tumorile benigne sînt în general bine delimitate și încapsulate de o membrană de țesut conjunctiv fibros, care constituie un plan de clivaj pentru extirparea chirurgicală. În majoritatea localizărilor, sînt mobile pe planurile supra- și subiacente. Tumorile benigne cresc expansiv prin dislocarea țesuturilor adiacente, fără invadarea acestora. Forma lor variază considerabil, cele dezvoltate în parenchime au aspect de noduli sferici-ovoizi sau polilobați, care nu deformează semnificativ organul, pe cîtă vreme tumorile situate pe suprafețele organelor tubulare sînt vegetante, păstrînd o legătură mai mult sau mai puțin strînsă cu țesutul de origine.

Contrastînd cu acestea, tumorile maligne, sînt rareori încapsulate, au contururi neregulate și limite imprecise, datorită tendinței lor de infiltrare în țesuturile din jur. Invazia se face în toate sensurile, în mod nesistematic, fără respectarea vreunei granițe anatomice, sub forma unor prelungiri tentaculare, care au sugerat de altfel comparația aflată la originea denumirii lor generice.

Carcinoamele tubului digestiv, căilor respiratorii, genitale etc., îmbracă forme variate: — *vegetante*, cu bază largă de implantare și tendință evidentă de invazie a peretelui; — *ulcerante*, rezultate prin necroza și îndepărtarea unei părți din masa neoplasmului; — *superficiale*, extinse în suprafață, dar nedepășind mucoasa organului; — *infiltrative*, care pătrund adînc în peretele organului, îl îngroașă și indurează, modificînd ne semnificativ suprafața internă a acestuia. Carcinoamele infiltrative care au o bogată stromă colagenă și astfel sînt extrem de dure, sînt cunoscute sub denumirea de schirusuri sau carcinoame schiroase. Frecvent carcinoamele îmbracă forme complexe, ulcero-vegetante, vegetante-infiltrante etc.

Deși unele variante tumorale benigne cum sînt lipoamele, condroamele și multe altele păstrează culoarea, textura, consistența țesuturilor de origine, cele mai multe din ele și practic toate tumorile maligne au însușiri macroscopice diferite de cele ale structurilor în care s-au dezvoltat. Carcinoamele au consistență fermă, chiar dură, lemnoasă, culoare alb-cenușie, în timp ce sarcoamele au consistență și aspect comparabile cărnii de pește nefiert. Hemoragiile intratumorale, necrozele de cauză ischemică, fibro-hialinizarea, calcificarea și alte modificări distrofice secundare alterează aspectul macroscopic al tumorilor primare.

4.3.2.

Aspecte histo-arhitecturale

Histo-arhitectura tumorilor este un element important în diagnosticul și clasificarea acestora. Tumorile benigne reproduc, în marea lor majoritate, tabloul structural al țesuturilor de origine. Similitudinea este uneori atît de mare, încît însuși diagnosticul pozitiv al tumorii devine dificil. De exemplu, celulele unui papilom se dispun în straturi suprapuse, regulate, aidoma celor din epiteliul pavimentos de origine, celulele unui adenom realizează formațiuni glandulare uniforme ca dimensiuni, formă etc.

În linii generale tabloul histologic și dispoziția celulelor tumorilor maligne diferă de cele ale țesuturilor normale, amploarea deviației definind, alături de alte aspecte, gradele de diferențiere a tumorilor. Proliferarea tumorală malignă se caracterizează prin alterarea raporturilor obișnuite dintre celule și relația acestora cu membrana bazală, alterări concretizate de pierderea polarității celulelor, a dispoziției lor în rînduri ordonate, concomitent cu tulburarea procesului de maturare (fig. 4.8).

Caracterizarea histo-arhitecturală a tumorilor are în vedere și raporturile dintre cele două componente de bază ale acestora, parenchimul, reprezentat de celulele tumorale proliferante și stroma, formată din țesut conjunctiv de suport, străbătut de vase sangvine, limfatice și filete nervoase. În tumorile maligne raporturile menționate sînt esențial modificate, invazia stromei de către celulele neoplazice (fig. 4.17, 4.18, 4.19) constituind unul din cele mai importante criterii de diagnostic al cancerelor (Meissner și Diamandopoulos, 1977).

Cercetările experimentale au demonstrat rolul vital jucat de stromă în evoluția masei tumorale, capacitatea proliferativă a parenchimului fiind dependentă de irigația sangvină corespunzătoare, asigurată în condițiile dezvoltării din vasele preexistente a unei rețele capilar adecvate. Un interes deosebit pentru acest aspect al tumorigenezei îl prezintă evidențierea, de dată relativ recentă, a unui factor angiogenetic cu efect mitogen asupra endoteliului capilar, elaborat chiar de celulele tumorale (Gullino, 1978). Discrepanța dintre proliferarea parenchimală și irigația sangvină se soldează cu necroze ischemice și hemoragii în centrul tumorilor, centrul corespunzînd regiunii celei mai îndepărtate din rețeaua vasculară.

Cantitatea și calitatea stromei influențează considerabil proprietățile morfologice ale tumorilor. Consistența cămoasă a sarcoamelor, aspectul macroscopic comparabil cu țesutul nervos, pe care-l iau carcinoamele medulare, sînt datorate proporției reduse a stromei fibroase (fig. 4.3), la polul opus situîndu-se carcinoamele „schiroase” a căror consistență este determinată de stroma cola-

genă abundentă și foarte densă (fig. 4.18). Formarea excesivă de stromă conjunctivă fibroasă este etichetată drept reacție desmoplazică sau simplu, desmoplazie.

Stroma este uneori sediul unei intense infiltrări cu limfocite, plasmocite, histiocite, cunoscută sub denumirea de „stromă reacție“, sugerînd răspunsul imunitar, cu posibil rol protector, al gazdei față de tumoare. Carcinomul medular mamar, de exemplu, se caracterizează printr-o infiltrație limfocitară stromală, pusă, alături de alte elemente morfo-biologice, în legătură cu binecunoscutul său prognostic favorabil (Ackerman, 1964).

4.3.3.

Caractere citologice

Celulele parenchimale, ca element proliferant, constituie componenta cea mai importantă a tumorilor, de care depinde însăși natura acestora. Deoarece în totalitatea lor au suferit transformări fundamentale, celulele parenchimale tumorale vor avea unele caracteristici comune, exprimate însă într-o scară foarte largă de modificări morfologice și funcționale.

Prin contrast cu celulele tumorilor benigne, care diferă foarte puțin de corespondentele lor normale, celulele tumorilor maligne oferă o mare varietate de modificări morfologice, citochimice atît citoplasmatic, cît și nucleare.

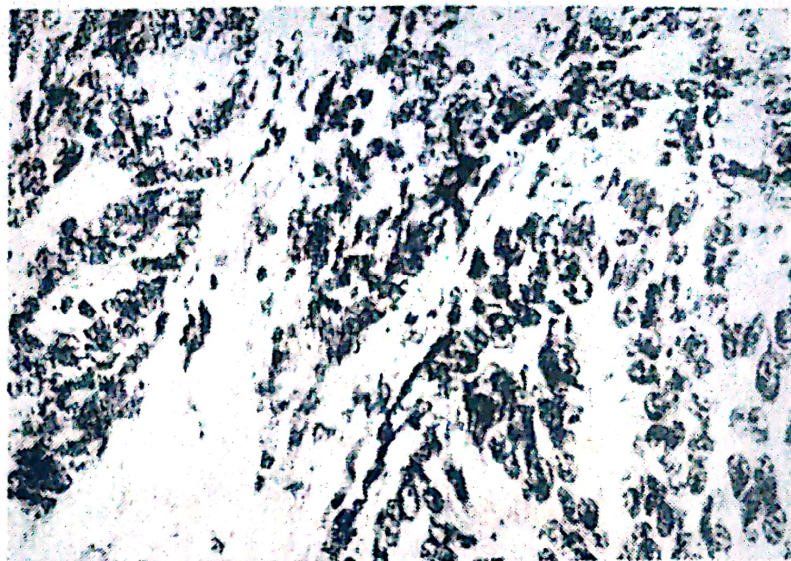
Celulele canceroase variază ca formă și dimensiuni în limite foarte largi (pleomorfism), în general sînt mai mari decît corespondentele lor normale, au contururi neregulate și adesea forme bizare (fig. 4.2, 4.5). În tumorile cu grad ridicat de malignitate se găsesc frecvent celule gigante, cu nuclei multipli, de forme neobișnuite, însoțite de celule mici, de aspect primitiv.

Citoplasma este în mod curent redusă cantitativ și colorată în albastru (bazofil) datorită abundenței ARN ribozomal. Nucleii celulelor canceroase prezintă modificările cele mai pregnante. În interfază, nucleii manifestă hipertrofie variabilă, responsabilă de inegalitatea dimensională (anizocarioză), creșterea raportului nucleu citoplasmă de la $1/4$ la $1/1$, precum și colorație intensă (hiper- sau tahicromazie), datorită creșterii cantității de nucleoproteine (ADN), respectiv de cromatină. Conturul nuclear este neregulat, ca urmare a incizării, lobulației, înmuguririi, dînd expresie aceleiași tendințe la pleomorfism pe care o manifestă celula în totalitatea ei. (fig. 4.1, 4.2, 4.4, 4.19). Membrana nucleară este în general îngroșată, dublată de condensări cromatinice periferice, iar nucleolii cresc ca volum, pot deveni multipli și polimorfi ca aspect.

Tumorile maligne posedă un număr crescut de mitoze reflectînd o intensă activitate proliferativă. Reține în mod deosebit atenția aspectul atipic, bizar al mitozelor (fig. 4.4. și 4.5), datorat caracterului multipolar al acestora, decalajului de ascensiune cromozomială și absenței duplicării cromozomilor în anafază.

Celulele tumorale bine diferențiate posedă elemente caracteristice activității biologice a celulelor normale, cum ar fi: mucusul, cheratina, striatiunile transversale, enzimele, materialele fagocitate etc., proprietăți care se estompează în paralel cu progresiunea anaplaziei. Evidențierea enzimelor prin tehnici histochemice contribuie substanțial la evaluarea potențialului funcțional al tumorilor, dar și la identificarea precisă a tipului histologic al acestora, uneori extrem de dificilă pe preparatele microscopiei de rutină. În același scop, de mare utilitate s-a dovedit microscopia electronică, prin evidențierea infrastructurilor citoplasmatică specifice unui anumit tip de celulă.

Fig. 4.4. — Carcinom nediferențiat, pleomorfism celular, H-E, 110×.



Marea majoritate a cancerelor prezintă anomalii ale cariotipului, constând într-o varietate extremă de modificări ale numărului și morfologiei cromozomilor, cum sînt: diversele forme de aneuploidie, anomaliile prin deleție, translocare, fuziune etc.

Revelatoare pentru malignitate, aceste anomalii cromozomiale sînt lipsite de specificitate pentru tipurile particulare de cancer. Singurul marker constant este cromozomul Philadelphia (Ph-1), un autosom G 22 scurtat, caracteristic leucemiei granulocitare cronice.

Deși anomaliile cariotipului reprezintă, după toate probabilitățile, fenomene secundare cancerului, trebuie avută în vedere și eventualitatea ca alterări ale genelor, aflate în afara posibilităților de depistare citogenetică, să constituie transformări incipiente ale carcinogenezei. În favoarea acestui punct de vedere pledează existența unor aberații cromozomiale discrete în leziunile displazice precanceroase ale colului și intestinului gros, care se accentuează

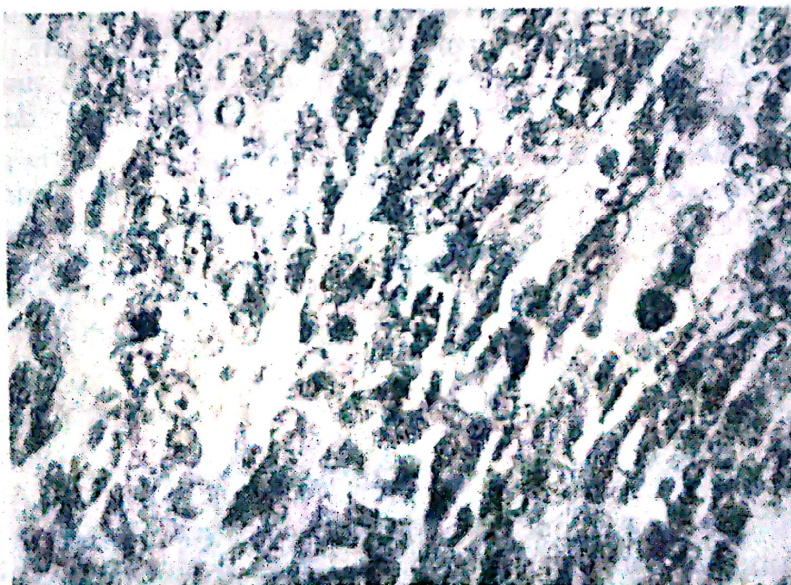


Fig. 4.5. — Mitoze atipice într-un carcinom nediferențiat, H-E, 280×.

paralel cu progresiunea acestora spre cancer. Mai mult, incidența ridicată a cancerului la persoanele cu anomalii cromozomiale (leucemia este de 20 de ori mai frecventă la bolnavii cu sindrom Down, comparativ cu populația generală), susceptibilitatea crescută pentru cancer, înregistrată în ataxie-telangiectazie, scot în evidență rolul predispozant carcinogenic al acestor modificări de cariotip, respectiv statutul lor de stări genetice precanceroase (Meissner și Diamandopoulos, 1977; Robbins, 1974).

Deși nici una din modificările citologice expuse anterior nu este patognomonică pentru cancer, ele putând fi întâlnite în egală măsură în tumori benigne și procese netumorale, ansamblul lor este preponderent identificat în tumorile maligne, constituind un element esențial al diagnosticului histo-patologic al acestora (Ackerman, 1964; Cabanne și Bonenfant, 1980; Moraru și Nicolescu, 1980).

4.3.4.

Ritmul creșterii tumorilor

Majoritatea tumorilor benigne cresc încet, într-un ritm stabil, atingând dimensiuni remarcabile după o evoluție de mai mulți ani. Spre deosebire de acestea, tumorile maligne cresc în general rapid, într-un ritm neuniform, variind extrem de mult chiar și în cazul tumorilor de același tip histologic. Unele cancere pot să parcurgă perioade îndelungate „dormant”, de inactivitate sau aparentă încetare a proliferării celulare, în timp ce evoluția altora este marcată de faze de creștere explozivă, caracterizate prin proliferare celulară rapidă și malignitate crescută, numite pusee evolutive — PEV — evidențiable clinic îndeosebi în cancerele mamare.

Conceptul actual despre creșterea tumorilor se bazează pe „timpul de dublare” al celulelor tumorale, dublare realizată prin diviziunea mitotică a generațiilor succesive de celule. Timpul de dublare este inconstant, chiar și în aceeași tumoare, fiind influențat de numeroși factori biologici capabili să mărească sau să scadă ritmul proliferării celulare, respectiv durata ciclului biologic al acestora.

Ritmul crescut al creșterii tumorilor este relevat de prezența mitozelor și a celulelor tinere, frecvente în cancer și relativ rare în tumorile benigne și majoritatea țesuturilor normale. Proportia obișnuită în tumorile maligne este de 20 sau mai multe mitoze la o mie de celule, în timp ce în tumorile benigne se identifică mai puțin de o mitoză la același număr de celule.

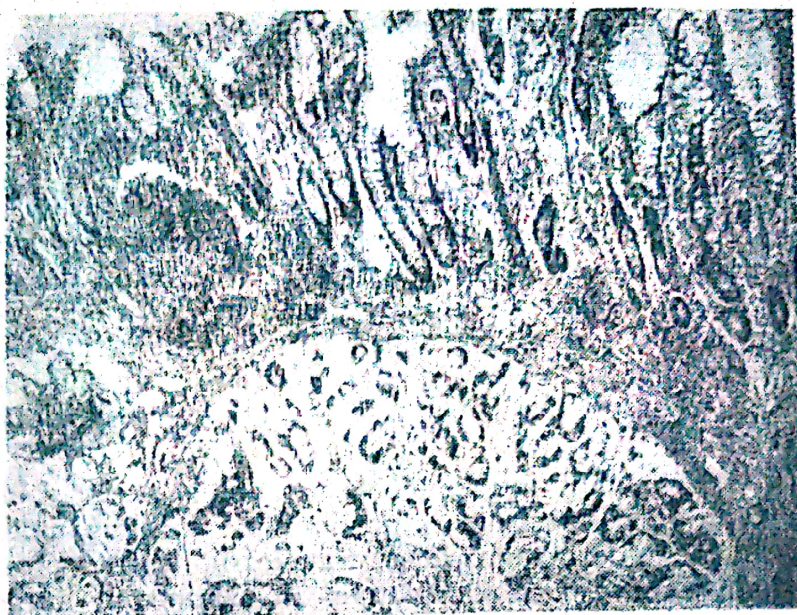
Cercetările din ultimii ani au evidențiat existența unor mecanisme reglatoare sau de control ale creșterii tumorale intervenind asupra activității mitotice a celulelor, ca și producerea de către tumori experimentale a unei cantități scăzute de inhibitori mitotici specifici denumiți chaloni. Suprimarea înmulțirii mitotice a celulelor tumorale reprezintă ținta mijloacelor actuale de terapie a cancerului, și un obiectiv de perspectivă în cercetarea oncologică (Meissner și Diamandopoulos, 1977).

4.3.5.

Creșterea locală și invazia tumorală

Una dintre caracteristicile majore ale cancerelor este extinderea continuă în țesuturile de origine și adiacente, prin invazia și infiltrarea acestora. Prin

Fig. 4.6. — Adenocarcinom rectal, invazie în submucosă în afara limitei vizibile cu ochiul liber a tumorii, H-E, 70%.



caracterul heterotipic pe care-l presupune (heterotopia definește prezența unui țesut în alte sedii decât cele normale) invazia tumorală reprezintă un criteriu important de diagnostic histopatologic al cancerelor.

Invazia locală are loc în interstițiile Țesuturilor normale adiacente, cu depășirea frecventă a limitelor vizibile cu ochiul liber ale neoplasmelor (fig. 4.6). Faptul prezintă importanță practică deosebită în terapia chirurgicală a cancerelor, impunând rezecția unei porțiuni considerabile de țesut aparent sănătos din jurul tumorii. În cancerele bine diferențiate, cu creștere lentă, cu o pseudocapsulă fibroasă, cum sînt carcinoamele foliculare tiroidiene, infiltrarea tumorală a membranei limitante poate constitui singurul indiciu al malignității acestora.

Mecanismul aflat la originea fenomenului de invazie canceroasă, probabil foarte complex, nu este încă pe deplin elucidat. Se acordă credit posibilității celulelor canceroase de a elabora substanțe cu acțiune litică asupra stromei periferice, de tipul unor enzime proteolitice, capabile să mărească vulnerabilitatea Țesuturilor adiacente la invazia tumorală. În favoarea acestei ipoteze pledează identificarea în carcinoamele spinocelulare ale pielii, a unor substanțe collagenolitice, secreția de către celulele mielomului multiplu a unui factor stimulator al osteoclastelor etc. În legătură cu același mecanism trebuie avută în vedere rezistența extrem de diferențiată opusă de țesuturi invaziei tumorale, unele din ele, cum sînt cartilajul, tendonul, stratul elastic al arterelor fiind complet impenetrabile, în timp ce mușchii și alte țesuturi moi constituie un mediu propice infiltrației tumorale (Meissner și Diamandopoulos, 1977).

Carcinoamele „in situ”, denumite carcinoame intraepiteliale, preinvazive sau carcinoame în stadiul „0”, reprezintă o categorie distinctă de cancere, diagnosticabile exclusiv histo-patologic și întrunind toate caracterele cito-histologice ale malignității, cu excepția invaziei. Procesul neoplazic este situat strict intraepitelial, limitat de o membrană bazală intactă, care îl desparte de corionul subiacent sau țesutul conjunctiv din jur, evidențiată în microscopia optică prin tehnicile de impregnare argentică Gomori și colo-

rație a mucopolizaharidelor neutre cu acid periodic Schiff (PAS). Excluderea cu maximum de certitudine a depășirii membranei bazale de către celulele neoplazice, deci a caracterului invaziv al carcinomului, presupune explorarea minuțioasă a unor secțiuni seriate, efectuate în fragmente prelevate din multiple zone ale tumorii.

În histogeneza cancerelor epiteliilor pavimentoase și glandulare, carcinomul intraepitelial este un stadiu intermediar obligatoriu între displazia agravată și carcinomul franc invaziv, o etapă din procesul dinamic al transformării leziunilor displazice benigne în leziuni tumorale maligne. Continuitatea leziunilor corespunzătoare ale colului uterin, bine documentată clinic și experimental, a determinat integrarea lor sub termenul de CIN — cervical intraepithelial neoplasia — a cărei semnificație va fi reliefată în alt capitol.

Carcinomul intraepitelial al colului uterin și displazia agravată a epitelului aceleiași structuri prezintă în principiu modificări similare de atipie celulară și dezorganizare a stratificării, diferențierea celor două entități bazându-se pe aspecte cantitative. În carcinomul intraepitelial, procesul interesează epitelul în toată grosimea acestuia, celulele sînt de aspect monomorf, ovoide sau fuziforme, cu citoplasma redusă, bazofilă, nuclei mari, hipercromi, cu cromatină condensată în grunji mari și mitoze relativ numeroase, atipice. Prin contrast, în displazia agravată procesul se limitează la straturile mai profunde ale epitelului, cele superficiale manifestînd un oarecare grad de diferențiere spinocelulară (Reagan și Wentz, 1967).

În afara localizărilor epidermice și cervicale uterine, al căror studiu a contribuit esențial la elucidarea rolului și locului carcinoamelor intraepiteli-ale în carcinogeneză, acestea mai sînt identificate în endometru, epitelul bronșic, laringian, gastro-intestinal, ductele și lobulii mamari, foliculii tiro-idiene etc.

Adenocarcinoamele in situ ale endometrului, tiroidei, colonului (fig. 4.7.) etc. se caracterizează prin înlocuirea celulelor epiteliale normale cu celule tumorale care-și pierd polaritatea, au nuclei atipici și citoplasmă amfofilă,

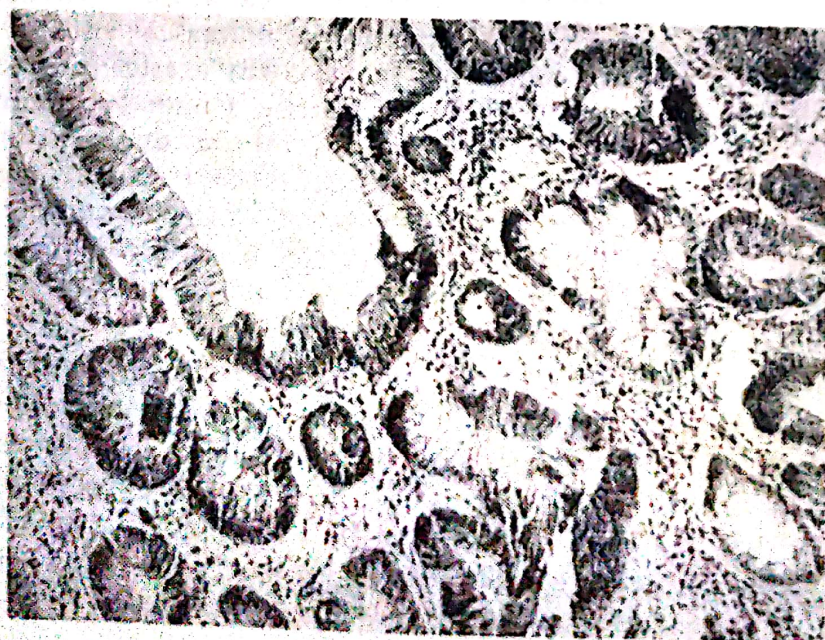
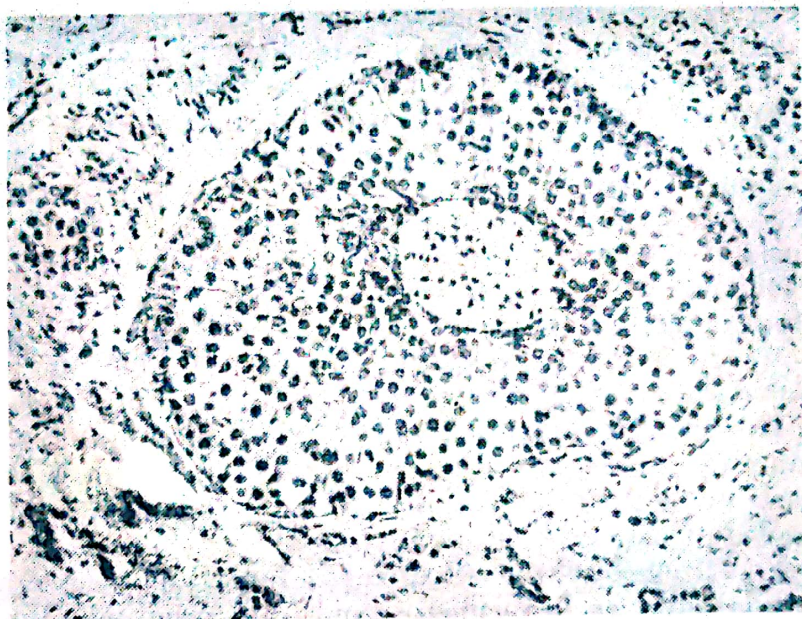


Fig. 4.7. — Adenocarcinom in situ al colonului, H-E, 140 $\times$.

Fig. 4.8. — Comedocarcinom mamar, H-E, 140 x.



dar în general își păstrează forma cubo-cilindrică. Absența invadării interstițiului sau corionului este probată de integritatea membranelor bazale glandulare, interesarea fragmentară a epitelului glandular și conservarea formei acestora.

Carcinomul intraductal sau carcinomul ductal in situ al mamelei reprezintă tumoarea malignă cu origine în epiteliul ductelor mamare, limitată strict la spațiul acestora. Ductele, cu volumul mărit, sînt obstruate de o masă proliferativă celulară de aspect polimorf, realizînd tablouri histologice variate: proliferări compacte, proliferări centrate de necroză (comedocarcinom) (fig. 4.8.) sau presărate cu lumene mici (carcinom cribriform), (fig. 4.9.), proliferări papilifere sau combinații ale acestora. Respectarea arhitecturii ductale a țesutului mamar, integritatea peretelui, suplimentată de condensarea

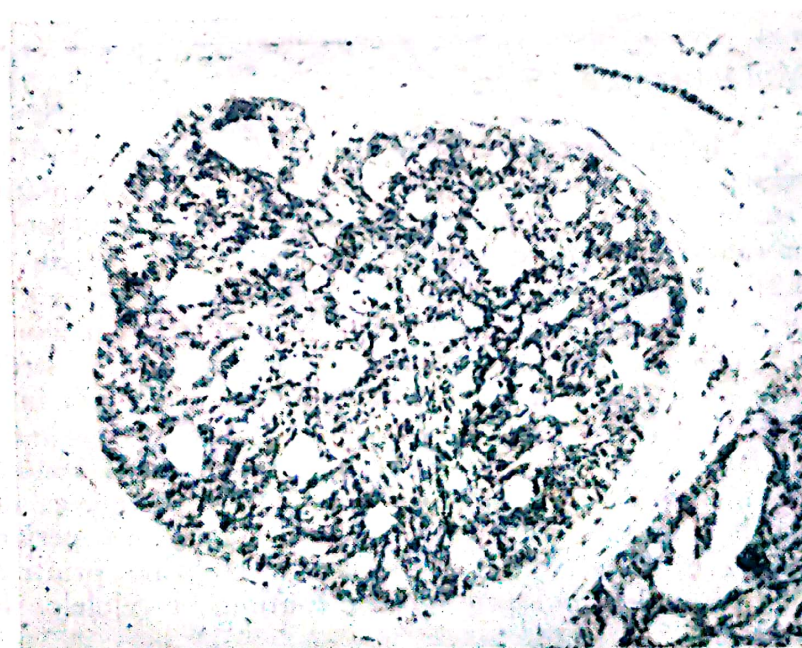


Fig. 4.9. — Carcinom intraductal mamar de aspect cribriform, H.E., 140 x.

circulară a fibrelor conjunctive din interstițiul adiacent sînt indicii utile în diagnosticul carcinoamelor intraductale.

Carcinomul lobular *in situ* al mamelei, cunoscut și sub denumirea de neoplazie lobulară, este o entitate microscopică, multifocală, adesea bilaterală, interesînd epitelul acinilor mamari sau ductelor terminale lobulare. Constă într-o proliferare de celule mai puțin mature, omogene ca aspect, care obstruează complet și distinde ductulele fără să le depășească membranele bazale, conservînd arhitectura lobulară și individualitatea acestora. Cu volumul mărit, cu contururi distincte, lobulii afectați sînt ușor identificabili la o putere mică de rezoluție a microscopului.

Un număr semnificativ de neoplazii lobulare vor dezvolta carcinoame lobulare invazive denumite și carcinoame cu celule mici, avînd particulară pe lîngă dimensiunea celulelor, dispoziția acestora în „șir indian“. Riscul apariției carcinomului lobular invaziv în neoplazia lobulară este de 7—9 ori mai mare decît la subiecții indemni, în jumătate din cazuri fiind afectat sînul controlateral (Lattes, 1980).

Carcinomul *microinvaziv* definește un neoplasm de dimensiuni reduse, evidențiabil exclusiv microscopic, care depășind membrana bazală, invadează în mod limitat stroma subiacentă. Ca și carcinomul *in situ*, reprezintă o etapă din evoluția neoplaziei spre stadiul invaziv. Profunzimea penetrației admisă pentru carcinomul *microinvaziv* este controversată, majoritatea autorilor opinînd pentru limita de 5 mm, măsurată de la suprafața leziunii pînă în punctul de maximă infiltrație.

Leziunile invazive incipiente, unicentrice, mai rar multicentrice, se prezintă sub forma unor muguri neregulați, subțiri sau de grupuri mici, circumscrise, de celule epiteliale neoplazice infiltrate în stromă, de obicei sub aria de carcinom *in situ*. Stroma din jurul placardelor neoplazice este infiltrată cu limfocite, plasmocite, neutrofile, infiltrație semnificînd o reacție imunomorfologică de apărare a țesutului gazdă. În mod caracteristic, carcinomul *microinvaziv* nu metastazează în limfo-ganglionii regionali (Reagan și Wentz, 1967).

4.3.6.

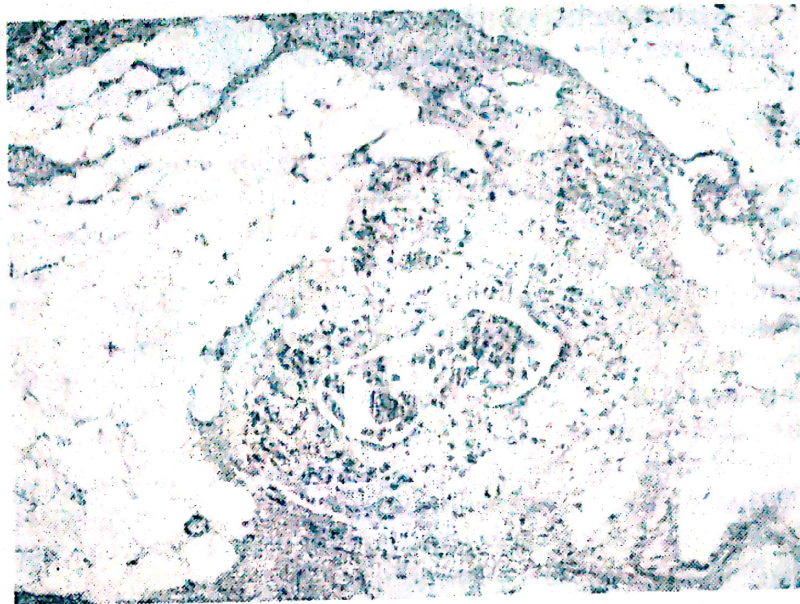
Metastazarea

Metastazarea este procesul de diseminare loco-regională și la distanță a celulelor canceroase, soldat cu apariția de formațiuni tumorale secundare sau metastaze. Pentru producerea metastazelor este necesar ca celulele tumorale să invadeze vasele sangvine, limfatice sau spațiile interstițiale (fig. 4.21 și 4.18), să se mobilizeze prin embolizare sau alte modalități de transport și, în sfîrșit, să se fixeze și să prolifereze în noi sedii tisulare.

Căile de metastazare ale cancerelor sînt, în ordinea importanței:

— *vasele limfatice*, participînd de preferință în diseminarea carcinoamelor, și embolii tumorale antrenate la limfă generînd metastaze în ganglionii limfatici regionali. Constanța interesării ganglionilor regionali în procesul de metastazare a carcinoamelor constituie adesea un indicator prețios în localizarea tumorii primare. Spațiile limfatice perinervoase servesc de asemenea extensiei locale a cancerelor, realizată printr-un proces de permeație limfatică, definind proliferarea continuă a celulelor în interiorul vaselor invadate;

Fig. 4.10. — Embolus tumoral venos, H-E, 140 x.



— *vasele sangvine*, reprezentînd calea de elecție a metastazării sarcoamelor, dar și a numeroase variante de carcinoame, cum sînt cele pulmonare, mamare, renale, prostatice, tiroidiene etc. Pătrunse în venule și vene, celulele canceroase sînt mobilizate sub formă de emboli și tromboemboli tumoral (fig. 4.10) pe traiectul principalelor vene, realizînd metastaze în ficat, plămîni, măduva oaselor (fig. 4.11), creier, ovare etc.;

— *cavitățile seroase*, în care diseminarea se face mecanic, prin detașarea celulelor tumorale care au invadat pleura și peritoneul;

— *lichidul cefalo-rabidian*, *lumenul tractului* respirator, digestiv, urinar;

— *contactul nemijlocit* dintre structurile aflate în apozitie.

Metastazarea se mai poate face și prin transplantare directă în plagă, în cursul intervențiilor chirurgicale biopsice sau curative, ca și cu ocazia biopuncturilor.

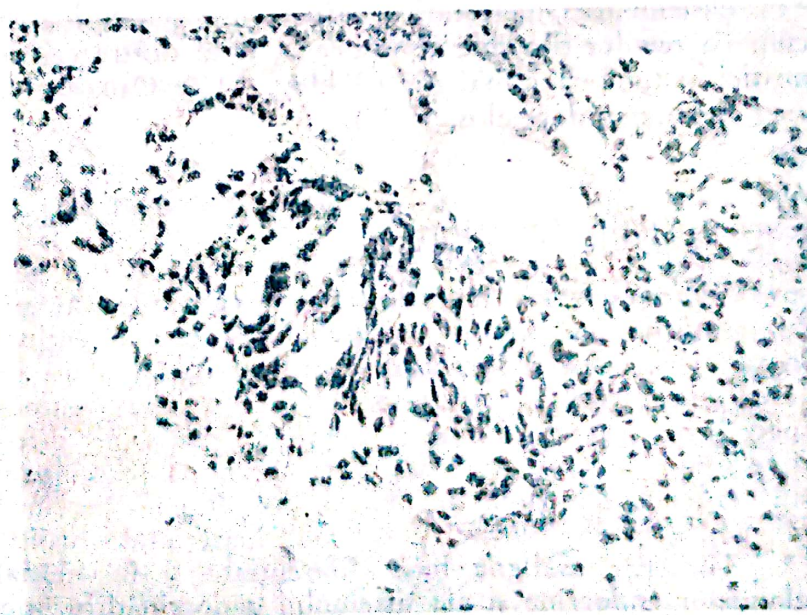


Fig. 4.11. — Metastază de carcinom în măduva oaselor, H-E, 140x.

Metastazele seamănă cu tumorile primare în ceea ce privește culoarea și consistența, dar au în general dimensiuni mai reduse decât acestea, sînt mai bine delimitate și adesea chiar încapsulate, fiind în consecință mai puțin invazive.

Caracterul regulat al contururilor metastazelor face dificilă uneori diferențierea lor de tumorile benigne. La fel de delicat poate fi diagnosticul diferențial cu tumoarea primară, îndeosebi atunci cînd aceasta este depășită în dimensiuni de metastază. Dilema este adesea rezolvată de identificarea mai multor formațiuni tumorale în același organ sau în structuri diferite. În aceeași ordine de idei trebuie avută în vedere tendința unor cancere, cum sînt cele hepatice, de a se constitui în noduli multipli, de dimensiuni diferite, dispersați în întreaga masă a organului. Spre deosebire de aceștia, metastazele hepatice au centrul ombilicat.

Deși microscopic metastazele pot fi mai mult sau mai puțin diferențiate comparativ cu parenchimul tumorii primare, asemănarea este adesea atît de mare, încît explorarea histologică a metastazelor permite afirmarea naturii și histogenezei tumorii primare.

Deoarece metastazarea este caracteristică, cu puține excepții (carcinoamele bazocelulare ale pielii, astrocitoamele sistemului nervos central), cancerelor, ea constituie un criteriu diagnostic de certitudine al malignității. Importanța clinică a metastazelor este reliefată de împrejurarea în care acestea reprezintă manifestarea unică sau de debut a cancerelor asimptomatice sau aflate înafara posibilităților de diagnostic ale explorărilor uzuale, denumite îndeobște cancere „oculte”. Un exemplu revelator este dat de metastazele limfo-ganglionare laterocervicale ale cancerelor tiroidiene oculte, de dimensiuni milimetrice, care nu se exprimă clinic prin tulburări endocrine și care au fost diagnosticate biopsic în laboratorul nostru într-o serie de cazuri.

Pe de altă parte, instalarea metastazelor pune probleme terapeutice. Pe cîtă vreme formațiunea primară a numeroase tipuri de cancere poate fi extirpată sau controlată eficient, prezența metastazelor multiple impune o terapie generală, complexă, întrucît cea locală este, de la sine înțeles, nesatisfăcătoare.

Diseminarea metastatică a tumorilor și amploarea acesteia reprezintă, așa cum va rezulta din cele ce urmează, unul dintre cei mai fideli indicatori prognostici ai tumorilor maligne (Ashley, 1978; Cabanne și Bonenfant, 1980; Meisner și Diamandopoulos, 1977).

4.3.7.

Caracteristici funcționale

Comparativ cu tumorile benigne care au analogii funcționale remarcabile cu țesuturile de origine, cancerele manifestă o abilitate funcțională variabilă în raport cu gradul lor de diferențiere. Astfel, dacă în tumorile maligne nediferențiate întreaga activitate metabolică este destinată proliferării, funcțiile specializate regresînd uneori complet, cele bine diferențiate produc o mare diversitate de substanțe cum sînt: cheratina (carcinoame spinocelulare), mucusul (adenocarcinoame mucipare), bila (hepatocarcinoame), melanina (melanome), gamaglobulinele (limfoame), materialul osteoid (osteosarcoame) etc.

Tumorile maligne bine diferențiate și în special tumorile benigne ale glandelor endocrine și ale sistemului endocrin difuz pot elabora hormoni pro-

prii structurii de origine a tumorii, capabili să determine tulburări fizio-patologice și clinice, ca de exemplu: hipertensiune arterială (feocromocitom), hipoglicemie (insulinom), tulburări ale metabolismului fosfo-calcic (adenom paratiroidian), pseudopubertate precoce (tumoare testiculară cu celule Leydig) etc. Secreția excesivă a unui hormon, apreciată prin creșterea concentrației sale sangvine, coroborată cu simptomatologia clinică este revelatoare pentru existența unei tumori endocrine nedetectabilă prin explorarea fizică sau procedeele diagnostice uzuale.

Hormoni sau substanțe cu efecte hormonale (hormon-like) pot fi secretate de tumori endocrine avînd structură diferită de a glandelor care sintetizează în mod normal aceste substanțe (secreție ectopică), ca și de tumori ale țesuturilor neendocrine, în marea lor majoritate incluse în rîndul apudoamelor. Carcinoamele pulmonare cu celule mici, de exemplu, secretă frecvent ACTH, hormon antidiuretic; unele adenocarcinoame ale colonului și sînului exercită efecte specifice parathormonului; hepatocarcinoamele sintetizează hormoni similari gonadotropilor etc.

Celulele canceroase pot elabora cantități excesive de enzime, cum sînt fosfataza acidă (mult crescută în carcinomul de prostată), amilaza serică (în carcinomul pancreatic) sau dimpotrivă pierd abilitatea de a secreta enzime specifice, cum este cazul fosfatazei alcaline a granulocitelor din leucemia mieloidă cronică, modificările avînd valoare diagnostică orientativă. Complementară acestora este identificarea în unele cancere de colon, ficat, plămîn, sîn, ovar, vezică urinară, prostată, a unor antigene tumorale ca alfa-fetoproteina, antigenul carcino-embriionar. Sinteza antigenului carcino-embriionar este proprie, în mod normal, exclusiv țesuturilor embrionare, încetează după naștere, pentru a redeveni activă la bolnavii de cancer, dar și de ciroză alcoolică, pancreatită, colită ulcerativă.

Evidențierea prin teste imunologice a antigenelor tumorale în serul bolnavilor nu este utilă atît diagnosticului cancerului, cît aprecierii evoluției bolii și eficienței terapiei, deoarece procentul de cazuri pozitive crește în raport cu extinderea locală, în prezența metastazelor și recidivelor.

Data fiind structura glicoprotidică a antigenelor carcino-embrionare, prezența lor în țesutul tumoral poate fi pusă în evidență prin tehnici histochimice electivă (Meissner și Diamandopoulos, 1977; Robbins, 1974).

4.3.8.

Efectele tumorilor asupra organismului

Deși tumorile benigne sînt în general inofensive, ele pot să inducă, datorită dimensiunii și localizării lor, tulburări de gravitate variată, unele ireversibile, periclitînd viața bolnavilor. Astfel, tumori de dimensiuni mici dezvoltate în cutia craniană (meningiom) determină atrofia prin compresie a substanței cerebrale, un leiomiom uterin voluminos determină hidronefroza prin comprimarea ureterului, tumorile dezvoltate în diferite segmente ale tubului digestiv pot da naștere la stenoze soldate cu întreruperea tranzitului etc. Efecte dramatice de tipul hemoragiilor masive endometriale sau comei hipoglicemice, pot fi determinate de hipersecreția hormonală a tumorilor endocrine benigne.

Tumorile maligne afectează gazda într-un mod similar celor benigne, consecințele fiind însă mult agravate datorită creșterii mai rapide, invazive și metastazării, precum și datorită modificărilor lor secundare degenerative de tipul necrozei, hemoragiei, ulcerăției etc. Bolnavii canceroși au frecvent anemie, determinată de hemoragii sau produși tumorali cu efecte toxice, emaciere progresând pînă la cașexie, rezultată prin acțiunea combinată a numeroși factori, imunodeficiență aflată la originea unei susceptibilități crescute la infecții.

În afară de efectele trecute în revistă, tumorile maligne induc și manifestări sistemice atribuite unor produși tumorali circulanți de natură încă neprecizată*, din care amintim: acantoza nigricans, caracterizată prin hiperpigmentarea și cheratinizarea pielii gâtului și axilei, acompunind un carcinom gastric; dermatomiozita, neuritele periferice, leziunile cerebrale degenerative în miozitele, însoțind carcinoamele pulmonare; hipercoagulabilitatea sangvină determinînd tromboflebite migratorii (semnul Trousseau), întîlnită îndeosebi în cancerul pancreatic și pulmonar; reacțiile leucemoide, disproteinemiile cu apariția unor proteine serice anormale, tulburările metabolismului electrolitilor evidențiate la bolnavii de cancer gastric și soldate cu osteoporoză sau osteomalacie.

Nici una din aceste modificări clinice și biochimice nu este suficient de constantă pentru a avea valoare diagnostică absolută; în principiu, modificările enunțate dispar o dată cu extirparea tumorilor primare și reapar consecutiv recidivării acestora (Ashley, 1978; Meissner și Diamandopoulos, 1977).

4.3.9.

Evoluția tumorilor maligne

Comportamentul biologic al tumorilor depinde de numeroși factori, unii aferenți tumorilor, alții depinzînd de gazdă, aflați într-o condiționare reciprocă. Evoluția tipică a cancerelor netratate se caracterizează printr-o continuă creștere invazivă locală și diseminare metastatică, acompuniate de manifestări sistemice progresive, exercitînd împreună un efect de emaciere și cașexie cu sfîrșit letal.

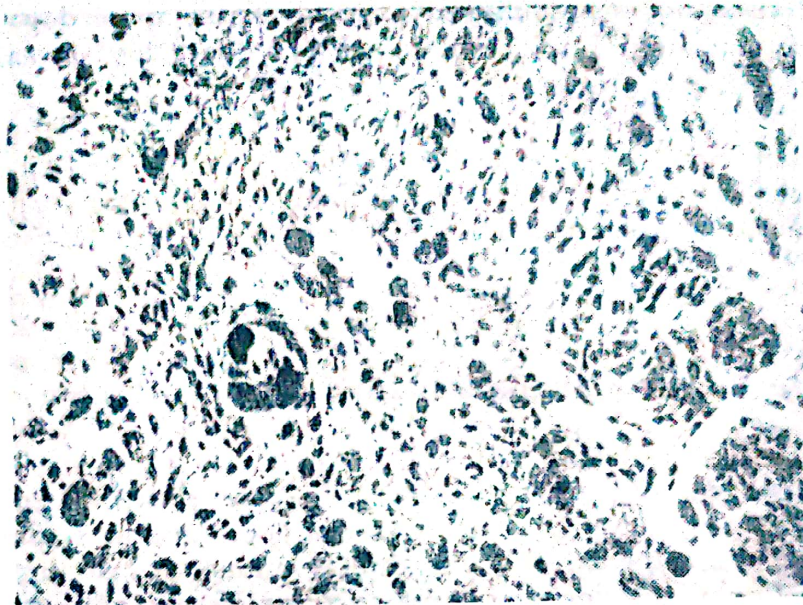
Aproximativ jumătate din decesele bolnavilor de cancer se datoresc unor afecțiuni inflamatorii din care cele mai frecvente sînt: bronhopneumoniile, septicemiile, peritonitele. Alte cauze de deces sînt: insuficiența cardio-respiratorie, hepatică, renală, hemoragia și infarctul tumoral, carcinoatoza definind diseminarea extinsă a unui carcinom etc.

Unele tumori, cum sînt carcinoamele renale, neuroblastoamele, coriocarcinoamele, melanoamele maligne (fig. 4.12), pot regresa spontan, prin regresune înțelegînd dispariția lor completă sau parțială, neatribuită tratamentului.

Tratamentul precoce, apelînd de la caz la caz la exereza chirurgicală, radioterapie, chimio- și hormonoterapie, stimulare imunitară, se soldează cu vindecarea cancerelor din unele localizări sau poate îmbunătăți substanțial evoluția bolii, mărind durata de supraviețuire a bolnavilor.

* Efectele sistemice induse de tumori prin sinteze de hormoni, produși tumorali diverși, prin imunodepresie, sînt denumite generic sindroame paraneoplazice.

Fig. 4.12. — Melanom malign în regresie spontană, H-E, 140 x.



Recidiva desemnează în termeni clinici reapariția tumorilor după îndepărtarea lor chirurgicală, datorită supraviețuirii și multiplicării celulelor neoplazice originare. Persistența celulelor tumorale este explicabilă în condițiile invaziei locale dincolo de limitele vizibile cu ochiul liber a cancerelor și/sau imposibilități obiective de a îndepărta tumoarea în totalitate, prin actul operator primar.

Recidivele apar în mod obișnuit după un interval de timp necesar multiplicării celulelor persistente pînă la formarea unei mase evidențiabilă clinic.

TABELUL 4.11

PRINCIPALELE CARACTERISTICI ALE TUMORILOR
(ROBBINS, 1974)

Benigne		Maligne
<i>Comportament local</i>		
creștere	lentă, progresivă: se pot stabiliza, pot regresa;	variabilă, în general rapidă:
extensie	dislocantă, fără distrucție;	invazivă, distructivă,
delimitare	circumserisă, încapsulată;	infiltrantă, fără încapsulare;
recidive	excepționale	obișnuite
<i>Comportament general</i>		
diseminare	inexistentă;	metastazare:
efect asupra gazdei	nul, cu excepția complicațiilor	grav, frecvent fatal
<i>Structura histologică</i>		
	bine diferențiată;	grade variate de diferențiere
	foarte asemănătoare structurii țesutului de origine	reproduc caricatural structura țesutului de origine;
mitoze	rare	numeroase
	aspect normal	anormale, atipice

Există însă și posibilitatea ca recidivele să apară după un interval îndelungat, de mai mulți ani, ca urmare a stării „dormant” în care se găsesc celulele tumorale persistente.

Deși caracteristice cancerelor, recidivele pot surveni și în tumorile benigne, cum sînt cele ale glandelor endocrine, în eventualitatea persistenței tulburărilor hormonale inductoare sau tumorile glandelor salivare, a căror extirpare integrală este împiedicată din motive obiective (Meissner și Diamandopoulos, 1977).

4.4.

Diagnosticul anatomo-patologic al cancerelor

În diagnosticul cancerelor sînt utilizate, înafară de explorarea clinică, unele tehnici și teste paraclinice din care, examenul anatomo-patologic este cel mai important prin specificitate și acuratețe. În stadiul actual al exigențelor, diagnosticul complet al cancerelor presupune, pe lângă stabilirea malignității și tipului histologic al acestora și precizarea gradului de malignitate, a extinderii locale și diseminării regionale sau la distanță, factori cu valoare prognostică, luați în considerare în elaborarea planului terapeutic.

Explorarea minuțioasă macroscopică și microscopică a tumorilor și interpretarea modificărilor obiective prin prisma experienței personale, permite unui anatomo-patolog competent stabilirea diagnosticului precis în 85—98% din cazuri. Realizarea acestei performanțe este condiționată de o strînsă cooperare între chirurg și anatomo-patolog (Robbins, 1974). În acest sens se impune cu necesitate furnizarea unui minim de date clinice: sex, vîrstă, sediul topografic al leziunii, dimensiunile acesteia, raporturile cu țesuturile și structurile anatomice din jur, diagnosticul clinic. Nu lipsite de importanță sînt referirile la starea fiziologică a bolnavului și tratamentele aplicate anterior, în special radioterapia, care determinînd alterări tisulare, diminuează acuratețea diagnosticului histo-patologic (fig. 4.13).

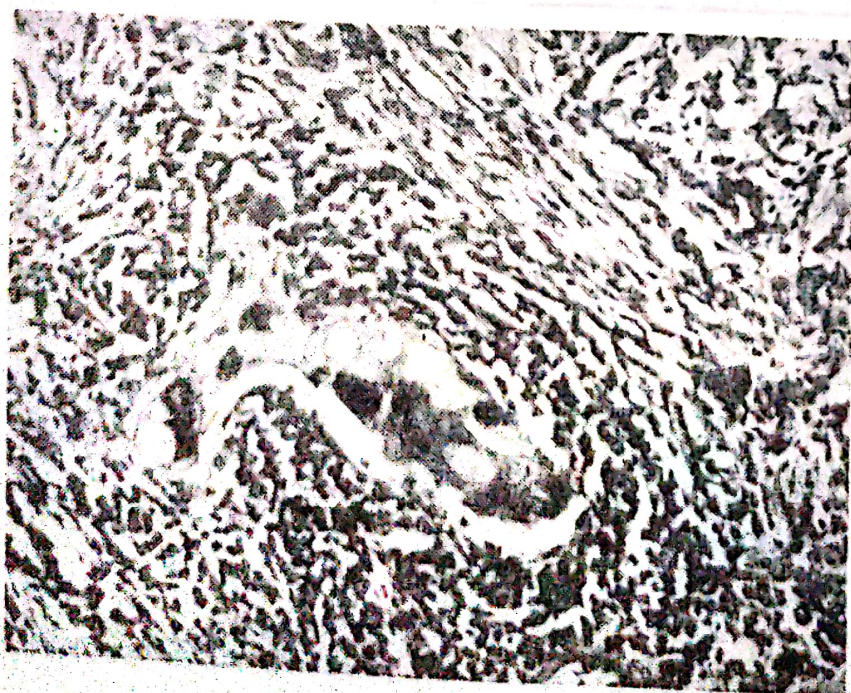


Fig. 4.13. — Placard de celule tumorale intens modificate prin iradiere, înconjurat de un abundent infiltrat limfocitar, H-E, 140 x.

4.4.1.

Metode de diagnostic anatomo-patologic

Biopsia. Piesa prelevată prin intervenție chirurgicală minimă, în scop diagnostic — biopsia deschisă (bios = viață; opsis = a vedea) — trebuie să conțină neoplasmul în întregime, dacă acesta este de dimensiuni reduse sau un fragment reprezentativ, dacă tumoarea este mai voluminoasă. Deoarece tumorile maligne cu creștere rapidă, voluminoase, suferă frecvent necroză ischemică centrală, este indicată prelevarea fragmentelor de la periferia neoplasmului, care reprezintă zone de expansiune ce conțin elemente activ proliferante. Este de asemenea extrem de utilă recoltarea concomitentă, de preferință într-o singură piesă cu tumoarea, a unui fragment de țesut normal, examinarea comparativă a structurilor dând o imagine fidelă asupra histogenezei neoplasmului.

Pentru o examinare în condiții optime, materialul prelevat trebuie manipulat cu deosebită grijă, evitându-se dilacerările, zdrobirile, crearea de raporturi false între componentele tisulare. În același scop este indicată introducerea piesei, imediat după prelevare, într-un fixator preparat în concentrație potrivită și în cantitate suficientă, preîntâmpinând astfel alterările necrotice, deshidratarea, care pot compromite structurile tisulare. Aceeași circumspecție se impune și anatomo-patologului la disecția, orientarea și modelarea prelevatelor tisulare care vor constitui obiectul unei laborioase prelucrări, cunoscută ca tehnica includerii la parafină, încheiată cu realizarea preparatelor histo-patologice.

Biopsia extemporanee. O variantă a tehnicii biopsice expuse este așa-numita biopsie extemporanee, utilizată frecvent în chirurgia oncologică pentru aptitudinea sa de a permite elaborarea unui diagnostic anatomo-patologic intraoperator, în minimum de timp. Piesa prelevată este fixată la formol 10%, la temperatura de fierbere, timp de 3 minute, apoi congelată cu zăpadă carbonică, secțiunile efectuate la un microtom corespunzător fiind colorate cu albastru de toluidină. Formularea diagnosticului este posibilă în timp record, 15—20 de minute, dar presupune un grad sporit de dificultate din cauza calității preparatului, net inferioară celei a pieselor prelucrate la parafină. Secțiunile la gheață sînt mai groase, mai puțin clare; celulele fiind hidratate, apar mai voluminoase, iar detaliile lor, estompate; colorația este neuniformă și de intensitate mai redusă.

În ciuda acestui handicap, prelucrarea minuțioasă, dublată de experiența anatomo-patologului, face din biopsia extemporanee o metodă de diagnostic indispensabilă serviciilor de chirurgie oncologică. În cazurile, rare de altfel, în care malignitatea tumorii nu poate fi afirmată cu certitudine, intervenția chirurgicală radicală este temporizată pînă la stabilirea diagnosticului definitiv pe preparatele incluse în parafină. Expunerea bolnavului la o nouă intervenție chirurgicală, cu tot disconfortul și riscurile inerente, este soluția de preferat unei operații mari, mutilante, bazată pe un diagnostic eronat. În practica laboratorului nostru necesitatea amînării deciziei din cauza dificultăților obiective de diagnostic intraoperator al biopsiei tumorale mamare a survenit într-un procent de 1—2% din cazuri, apropiat celui comunicat de Ackerman (1964).

Puncția-biopsie. O altă tehnică de prelevare în scop diagnostic este puncția-biopsie sau biopunctura, constînd în abordarea tumorii cu un ac lung,

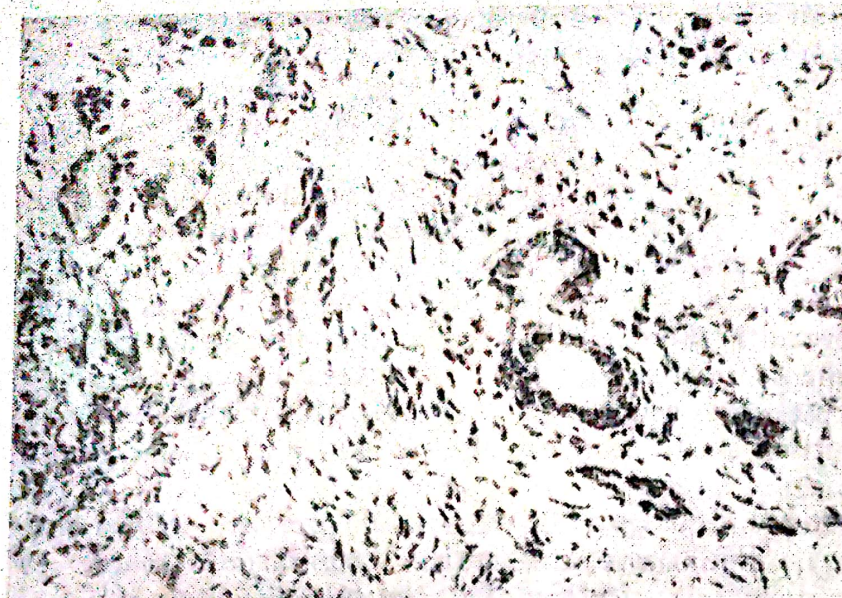


Fig. 4.14. — Adenocarcinom prostatic diagnosticat prin puncție biopsie, H.E., 70 x.

cu lumen de anumit calibru, prevăzut cu trocar sau un sistem de pensă. Prin manevre variind cu tipul de ac utilizat, se secționează fragmente tisulare cilindrice, care sînt aspirate cu ajutorul unei seringi etanșe.

Fragmentul tisular trebuie prelevat, din motivele expuse anterior, de la periferia tumorii, fiind prelucrat cu toată cauțiunea impusă de cantitatea redusă a acestuia. Valoarea diagnostică a metodei este limitată de dimensiunile reduse ale piesei, cu toate acestea, puncția-biopsie și-a dovedit cu prisosință utilitatea, avînd printre altele, avantajul de a fi mai puțin traumatizantă pentru bolnav decît biopsia deschisă și de a evita cea mai mare parte din inconvenientele intervenției chirurgicale.

Prin puncția-biopsie sînt abordate tumorile solide situate în țesuturile moi (mușchi, țesut subcutanat), în organele parenchimatoase (ficat, plămîn, rinichi, splină, testicul, prostată (fig. 4.14), glande endocrine etc.), tumorile mamare, ganglionii limfatici, măduva oaselor. Majoritatea tumorilor, ca și organele parenchimatoase cu textură mai laxă se pretează la puncție cu ace fine, cu care se aspiră suc sau lichid interstițial. Frotiul obținut din acest lichid este examinat citologic.

Endoscopia. Prelevarea biopsică din neoplasmele organelor tubulare, ca și din cele ale cavităților preformate se efectuează cu ajutorul endoscoapelor, prevăzute în principiu cu un sistem de iluminat, un sistem optic și un dispozitiv de recoltare. Endoscoapele prezintă adaptări speciale pentru organul sau cavitatea pe care o explorează, în funcție de care sînt denumite: gastroscop, rectoscop, cistoscop, pleuroscop etc. Ca și în cazul biopuncturii, dimensiunea extrem de redusă a prelevatului influențează negativ acuratețea diagnosticului histo-patologic.

Obiect al investigațiilor anatomo-patologice sînt și piesele de rezecție chirurgicală, organe și țesuturi, sedii ale proliferărilor neoplazice, care se pretează la o explorare macroscopică privind numărul, forma, culoarea, consistența, dimensiunea, sediul, raporturile cu țesutul normal înconjurător. Pe lîngă diagnosticul histo-patologic propriu-zis, aceste piese servesc stabilirii gradului de malignitate a cancerului, extinderii acestuia în țesutul matriceal

și structurile anatomice adiacente, ca și diseminării metastatice în limfoganglionii loco-regionali extirpați îndeobște concomitent cu tumoarea primară.

Neoplasmele colului și corpului uterin și chiar cele mamare sînt extirpate larg, în anumite circumstanțe, după o prealabilă cură radioterapică. Explorarea histo-patologică a acestora este utilă aprecierii eficacității tratamentului aplicat, stabilită în funcție de sterilizarea completă a leziunii, respectiv persistența țesutului proliferat tumoral și în această a doua eventualitate, în funcție de profunzimea alterărilor morfologice ale celulelor neoplazice, ca și de proporția dintre elementele degenerate și cele morfologic indemne.

4.4.2.

Diagnosticul pozitiv și diferențial al tumorilor

Diagnosticul histo-patologic pozitiv al unei tumori se bazează pe elemente cito-histologice proprii procesului neoplazic și care permit diferențierea acestuia de țesutul normal, matriceal, pe de o parte și de pseudotumori pe de altă parte.

Pseudotumorile reprezintă tumefacții tisulare localizate, care imită clinic și chiar histo-patologic tumorile, rezultînd din proliferări celulare de altă natură, decît cea tumorală. Pseudotumorile pot avea origine multiplă:

- malformativă, cum este cazul hamartoamelor (hemangioame cutanate, nervi pigmentari) și coristoamelor, cum sînt incluziile de țesut pancreatic în peretele intestinal, de exemplu;

- inflamatorie, proliferativă, ilustrată de leziunile granulomatoase;

- regenerativ-reparatorie, ca în cazul neuromului de amputație sau al banalului țesut de granulație servind vindecării plăgilor;

- hiperplazică*, îndeosebi disendocriniană, exemplificată de gușa adenomatoasă tiroidiană, hiperplazia nodulară a prostatei etc.;

- displazică**, exemplul concludent oferindu-l displaziile mamare, care adesea sugerează clinic și radiologic o tumoare malignă.

Etapă următoare a elaborării diagnosticului o constituie stabilirea tipului histologic al neoplasmului care, așa cum am văzut, este criteriul cel mai folosit de clasificare a acestora și se bazează pe interpretarea caracterelor lor histo-arhitecturale și citologice.

Distincția dintre tumorile benigne și maligne este opțiunea cea mai importantă solicitată unui anatomo-patolog, deoarece are implicații predictive asupra comportamentului biologic al neoplasmelor și determină în mod hotărîtor tratamentul. Deoarece intervenția chirurgicală în cancere este adesea

* *Hiperplazia* este creșterea numerică absolută a celulelor unui țesut. Celulele hiperplazice se caracterizează prin creșterea raportului nucleu-citoplasmatic, nuclei hipereromi, nucleoli voluminoși sau multipli, prezența mitozelor, un grad mai redus de maturare relevat de pierderea parțială sau completă a funcției și structurii normale.

** *Displazia*, denumită și hiperplazie atipică, constă în modificări de formă, dimensiune, orientare și raporturi ale celulelor adulte, care însă nu ating profunzimea transformărilor caracteristice cancerelor. Displaziile, proprii epitelilor, au caracter reversibil, celulele redobîndindu-și structura și funcția normală, consecutiv încetării acțiunii stimulilor inductori, dar pot progresa spre neoplazie, constituindu-se în veritabile leziuni precanceroase. *Metaplazia* este procesul de înlocuire a unui tip adult de celulă, diferențiat, cu alt tip adult de celulă. Survine atît în epitelii, cît și în țesuturile mezenchimale.

mutilantă, diagnosticul de malignitate impune o mare responsabilitate din partea medicului anatomo-patolog, cerînd astfel un înalt nivel de pregătire teoretică, dublată de o bogată experiență acumulată într-un centru de tradiție.

Departajarea celor două categorii de tumori folosește criterii morfologice obiective, din păcate toate lipsite de specificitate pentru malignitate. Primul criteriu luat în considerare este diferențierea parenchimului tumoral, noțiune care reflectă nivelul de maturare morfo-funcțională atins de celulele tumorale, respectiv măsura asemănării cito-histologice a tumorilor cu țesuturile de origine. Diferențierea tumorii este cu atît mai accentuată, cu cît asemănarea cu țesutul de origine este mai mare și invers, este cu atît mai redusă, cu cît trăsăturile morfologice ale tumorii se îndepărtează de cele ale țesutului omolog.

Dacă în general tumorile benigne sînt bine diferențiate, reproducînd uneori atît de fidel aspectul histologic al țesutului normal încît însăși recunoașterea lor este o problemă, cancerule prezintă un spectru larg de diferențiere cito-histologică, păstrînd însă totdeauna un grad de anaplazie.

Anaplazia este procesul prin care celulele de tip adult sînt înlocuite cu celule tinere, nediferențiate, de aspect embrionar, unele de dimensiuni gigante, forme bizare, posedînd nuclei multipli, întrunind în ansamblul lor caracterile morfologice ale celulelor canceroase. În consecință, anaplazia este considerată un veritabil marker al malignității.

În funcție de nivelul de maturitate morfo-funcțională a parenchimului tumoral, carcinoamele se clasifică în:

- carcinoame bine diferențiate, asemănătoare cito-histologic, pînă la identitate, cu țesuturile de origine (fig. 4.15);
- carcinoame cu diferențiere medie (fig. 4.17);
- carcinoame puțin diferențiate (fig. 4.18);
- carcinoame nediferențiate (fig. 4.4, 4.5);
- carcinoame anaplazice, ultimele două categorii fiind formate din celule

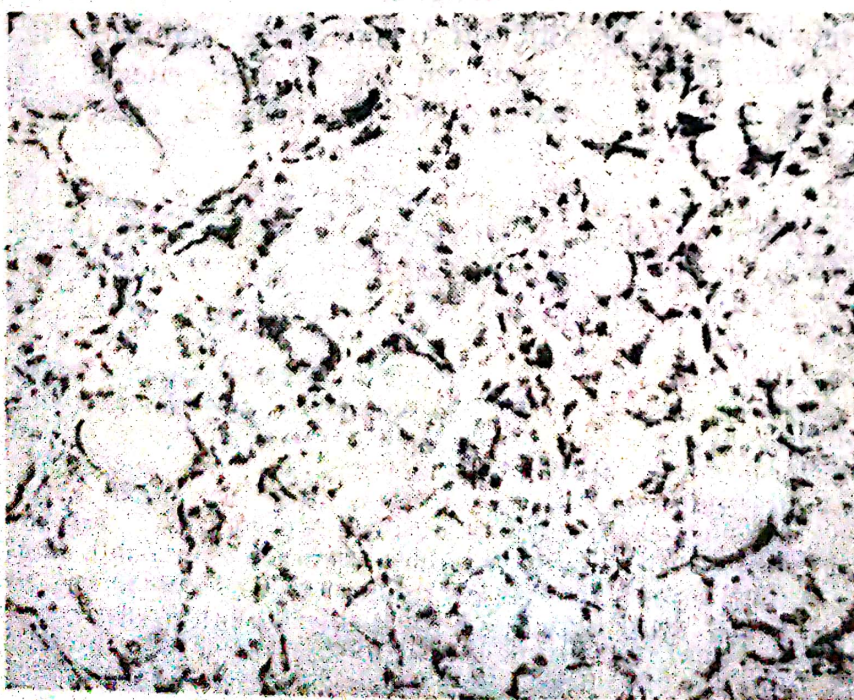


Fig. 4.15. — Carcinom follicular tiroidian, H-E, 140 x.

lipsite de orice asemănare cu celulele omoloage. Considerați multă vreme drept sinonimi, termenii „nediferențiat” și „anaplastic” desemnează, în stadiul actual al cunoștințelor, două categorii tumorale distincte. Astfel, dacă în carcinoamele nediferențiate, conservarea unei arhitecturi histologice generale permite recunoașterea naturii lor carcinomatoase, în cele anaplastice, pierderea oricărei similitudini cu vreun țesut adult sau embrionar face imposibilă stabilirea apartenenței lor la carcinoame sau sarcoame.

Gradul de diferențiere celulară se găsește într-o relație de proporționalitate directă cu ritmul creșterii tumorii, relevat de numărul mitozelor. În legătură cu prezența mitozelor se impune constatarea că acestea nu indică în mod necesar malignitatea tumorii, valoare diagnostică reală pentru neoplazia malignă avînd doar imaginile mitotice atipice.

Al doilea criteriu major de diagnostic histologic al cancerului este invazia acestuia în țesuturile adiacente normale, inclusiv infiltrarea membranei conjunctive a pseudocapsulei, a tecilor nervoase, pătrunderea în vasele sanguine și limfatice din sediul primar al neoplasmelor. În ultimă instanță, certitudinea absolută a malignității unei tumori o dă prezența metastazelor (Ackerman, 1964; Ashley, 1978; Cabanne și Bonenfant, 1980; Meissner și Diamandopoulos, 1977; Moraru și Nicolescu, 1980; Robins, 1974).

Făcînd abstracție de latura subiectivă a interpretării caracterelor morfologice diferențiate dintre tumorile benigne și maligne, trebuie luată în considerație și existența unor tumori, rare de altfel, al căror comportament biologic este în dezacord cu prognosticul stabilit prin criterii morfologice. Astfel, tumori cu aspect histologic benign, cum sînt mixoamele, se comportă biologic asemenea cancerelor, pe cînd tumori microscopic maligne, cum este cazul carcinoamelor bazocelulare ale pielii, au o evoluție favorabilă, limitată la sediul primar al acestora.

Tumorile la limita malignității (borderline), denumite și tumori cu potențial scăzut de malignitate, suscită un interes clinic și anatomo-patologic deosebit. Spre deosebire de majoritatea tumorilor care sînt fie cert benigne, fie indubitabil maligne, tumorile borderline nu pot fi încadrate cu certitudine într-una din cele două categorii, deoarece posedă aspecte histologice care pledează pentru benignitate, în timp ce alte caractere sînt proprii malignității, încadrîndu-se în consecință, într-o categorie intermediară între precedentele forme (Meissner și Diamandopoulos, 1977; Park, 1980).

Cel mai bine studiate din această categorie sînt tumorile borderline ale ovarului, denumite chistadenoame, cu potențial scăzut de malignitate (Figo, 1970) și caracterizate printr-o proliferare activă de celule epiteliale cu atipii nucleare, dar fără creștere infiltrativă și distructivă (fig. 4.16).

Aspectul macroscopic, chistic, multilocular, seros sau mucos, cu proliferări papilifere endofitice nu este patognomonic, diagnosticul bazîndu-se pe explorarea microscopică minuțioasă a mai multor fragmente și aplicarea riguroasă a criteriilor histo-patologice stabilite de Czernobilsky (cit. de Chenevart și Gloor, 1980): — conservarea axelor conjunctive ale papilelor; — stratificarea epiteliului papilelor; — proliferarea epiteliului papilelor sub formă de proiecții papilifere microscopice; — pierderea polarității celulelor; — atipii nucleare de formă și colorabilitate; — activitate mitotică prezentă, dar mai puțin de o mitoză pe cîmp microscopic la mărire puternică; — absența invaziei sau infiltrării capsulei și stromei ovariene, element esențial al diagnosticului tumorilor borderline.

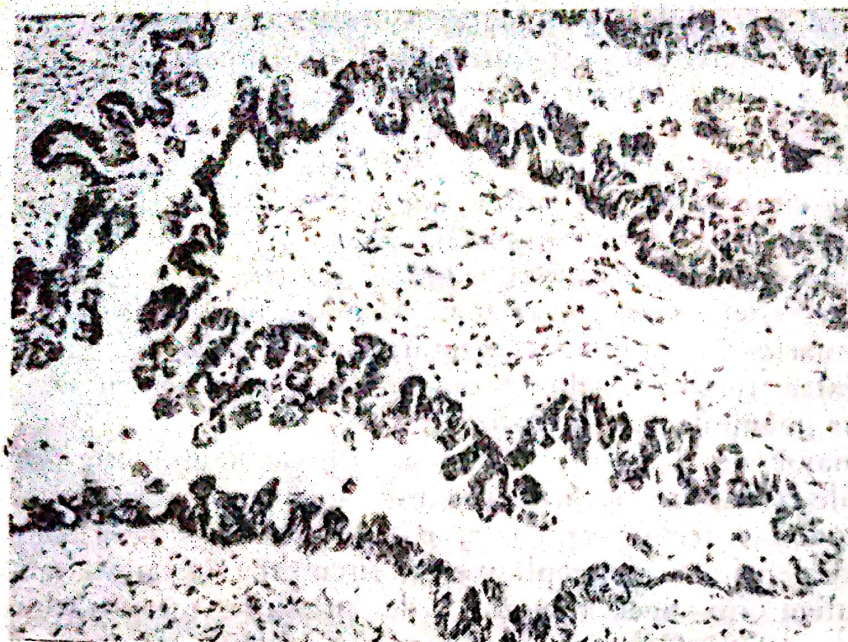


Fig. 1.16. — Tumoare ovariană la limita malignității — borderline, H-E, 70 x.

Încadrarea tumorilor borderline ovariene într-o categorie distinctă este pe deplin justificată de prognosticul lor semnificativ mai bun decât cel al carcinoamelor propriu-zise, chiar și atunci când se găsesc în stadii clinice avansate. Scully (citată de Chenevart și Gloor, 1980) constată o supraviețuire la 10 ani a 76% din bolnavele cu tumori seroase borderline și a numai 13% din cele cu carcinoame seroase ovariene. Diferența este concludentă și în cazul tumorilor mucoase, supraviețuirea fiind de 68% în rândul bolnavelor cu tumori borderline și de 34% în rândul celor cu carcinoame. De menționat că, metastazele peritoneale prin continuitate sau implantare nu alterează prognosticul tumorilor borderline ale ovarului.

4.5.

Prognosticul anatomo-patologic al cancerelor.

Grading și stadializare histo-patologică

Comportamentul tumorilor maligne este condiționat de caracterele morfo-biologice ale acestora, ca și de evoluția bolii canceroase. În aprecierea prognosticului cancerelor se iau în considerație factorii anatomo-patologici și clinici, aferenți neoplasmului însuși, cum sînt: sediul, aspectul macroscopic, structura histologică, extensia loco-regională, sau aferenți gazdei, cum ar fi de exemplu: vîrsta, starea generală, statusul imunitar, timpul scurs între debutul simptomelor și diagnostic, stadiul evolutiv clinic al tumorii (TNM), existența puseului evolutiv (PEV) etc., raportați la durata de 5 sau 10 ani a supraviețuirii bolnavilor.

4.5.1.

Aspectul macroscopic al tumorilor

Forma tumorilor constituie un criteriu orientativ al malignității, în general tumorile vegetante manifestînd o malignitate mai redusă decât cele infiltrative. În acest sens pledează observațiile făcute de Chiricuță (1976),

conform cărora, la stadii clinice identice, formele exofitice ale cancerelor colului uterin au cel mai bun prognostic, urmate în ordine de formele ulcerative și infiltrative. Punctul de vedere enunțat nu este însă unanim împărtășit; astfel, Laumonier contestă semnificația prognostică a aspectului macroscopic, Lacour atribuie un prognostic mai sever formelor exofitice burjonnate decât celor infiltrative, Wolff consideră arbitrară distincția dintre formele macroscopice, deoarece de cele mai multe ori ele se asociază și numai rareori se exprimă în mod distinct (Chiricuță, 1976).

De largă circulație se bucură clasificarea în patru tipuri a tumorilor avansate ale stomacului, introdusă de Borrmann (1926), a cărei validitate este probată de scăderea procentului de supraviețuire la 5 ani după rezecție de la tipul I la tipul IV, așa cum rezultă din tabelul 4.III, care reproduce rezultatele cercetării efectuată de McNeer și colab. (citați de Lambert, 1975).

TABELUL 4.III

Tip tumoral	Formă macroscopică	Supraviețuire
I	vegetantă, limitată	44,8%
II	ulcerantă, limitată	45,1%
III	ulcerantă și infiltrantă	20,7%
IV	infiltrantă	6,7%

Dimensiunea tumorilor maligne oferă indicații cu valoare prognostică demonstrată de o experiență îndelungată. Revelatoare sînt datele publicate de Robbins (citată de Carpen și Oprea, 1981) privind supraviețuirea comparativă a bolnavelor cu cancer mamar de dimensiuni sub 2 cm și depășind 5 cm în diametru (tabelul 4.IV).

TABELUL 4. IV

Dimensiunea cancerului mamar	Supraviețuire		
	5 ani	10 ani	15 ani
sub 2 cm	46%	26%	18%
peste 5 cm	13%	4%	3%

În ceea ce privește cancerul colului uterin, Wolff (1968) constată că în cadrul aceluiași stadiu clinic T_1 , T_2 , prognosticul este diferit, după cum tumoarea este de „dimensiuni mici sau de dimensiuni mari” la examinarea directă (tabelul 4.V).

TABELUL 4.V

Dimensiune	Supraviețuire la 3 ani, fără recidive	
	T_1	T_2
Tumoare mică	93%	76%
Tumoare mare	60%	63%

Localizarea exactă a tumorilor maligne ale unor organe are de asemenea importanță prognostică. Supraviețuirea la 5 ani după gastrectomie a bolnavilor cu cancer variază în funcție de sediul tumorii, procentul cel mai scăzut dându-l tumorile polului superior (tabelul 4.VI).

TABELUL 4.VI

Gastrectomie	Sediul tumorii	Supraviețuire la 5 ani
Parțială	Treimea proximală	19%
	Treimea medie	33,5%
	Treimea distală	29,8%
Totală	Treimea proximală	12,7%
	Treimea medie	34,8%
	Treimea distală	43,7%

(McNeer și colab., cit. de Lambert, 1975)

În mod curent, prognosticul anatomo-patologic al tumorilor maligne se stabilește microscopic, prin explorarea unor parametri cum sînt: tipul histologic, invadarea vaselor sangvine, extinderea parietală, reacția stromei, indicele mitotic, gradul de diferențiere cito-histologică.

4.5.2.

Tipul histologic

Tipul histologic este un indicator fidel de apreciere prognostică pentru anumite categorii de cancer. Astfel, carcinomul bazocelular al pielii, cu o bine cunoscută evoluție strict locală, se bucură de un prognostic excelent, seminomul testicular răspunde favorabil orhiectomiei urmată de radioterapie, în timp ce tumorile embrionare ale aceluiași organ excelează prin agresivitate (Cabanne și Bonenfant, 1980).

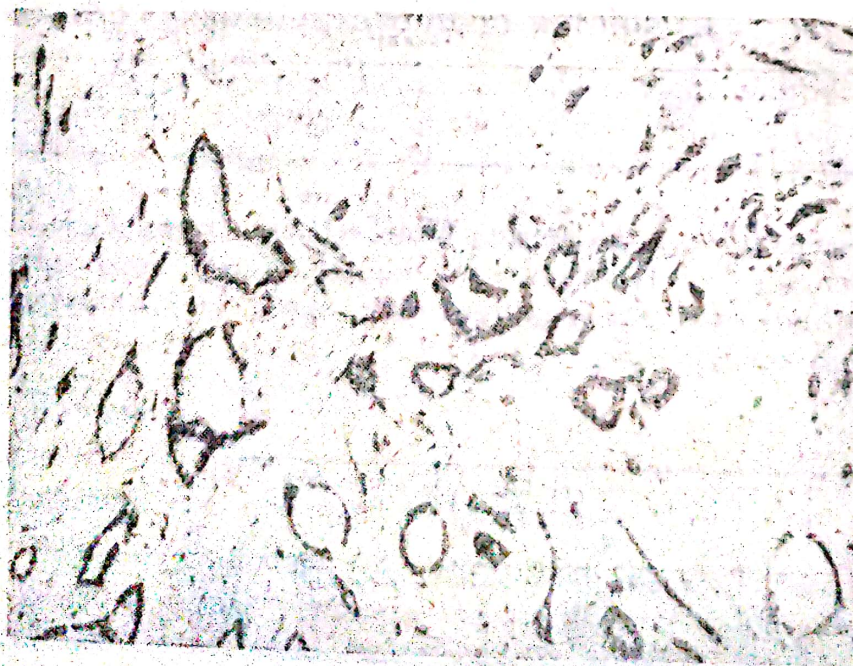


Fig. 4.17. — Adenocarcinom mamar, grad redus de malignitate, H-E, 70 x.

Utilitate practică în evaluarea histologică a comportamentului cancerelor mamare a dovedit-o schema lui Ackerman (1964), conform căreia tumorile sînt departajate în patru tipuri cu malignitate progresiv crescîndă:

- tipul I, tumori neinvazive, nemetastazante: carcinoame intraductale (fig. 4.9);
- tipul II, tumori invazive, rar metastazante: adenocarcinoame bine diferențiate (fig. 4.17), carcinoame medulare, mucipare, papilifere, lobulare;
- tipul III, tumori invazive, moderat metastazante: adenocarcinoame infiltrative, carcinoame intraductale cu invazie stromală (fig. 4.18);
- tipul IV, tumori invazive, cu metastazare ridicată: carcinoame trabeculare lipsite de diferențiere glandulară și toate variantele de tumori care invadează vasele sangvine (fig. 4.19).

Studiul efectuat de Galatâr și Galatâr (1981) pe 161 bolnave cu cancer mamar tratate prin mastectomie radicală relevă scăderea procentului de supraviețuiri la 5 ani în raport cu gradul de malignitate reflectat de tipurile histologice ale neoplasmelor (tabelul 4.VII).

TABELUL 4.VII

Tipul histologic	Nr. cazuri	Supraviețuiri la 5 ani	
I	1	1	100%
II	10	10	100%
III	81	57	70,3%
IV	69	41	57,9%

Supraviețuirea la 5 ani a bolnavelor cu cancer ovarian este de asemenea substanțial influențată de tipul histologic al tumorilor. Astfel, dacă în carcinoamele nediferențiate, extrem de maligne, nu se înregistrează supraviețuiri la 5 ani, acestea se cifrează la 13—37% în chistadenocarcinoamele seroase și respectiv la 25—70% în chistadenocarcinoamele endometrioidale (Lansac, 1973).

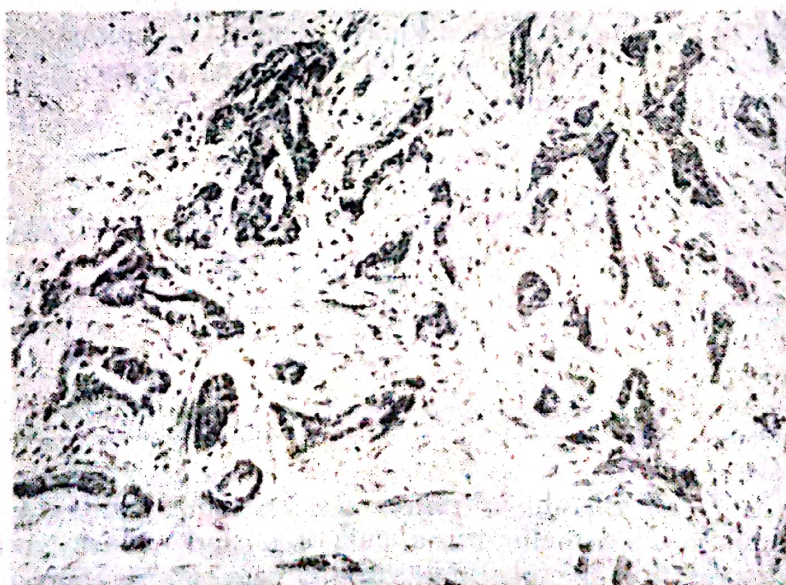


Fig. 4.18. — Carcinom trabecular și glandular mamar malignitate de grad mediu, H-E, 140 x.

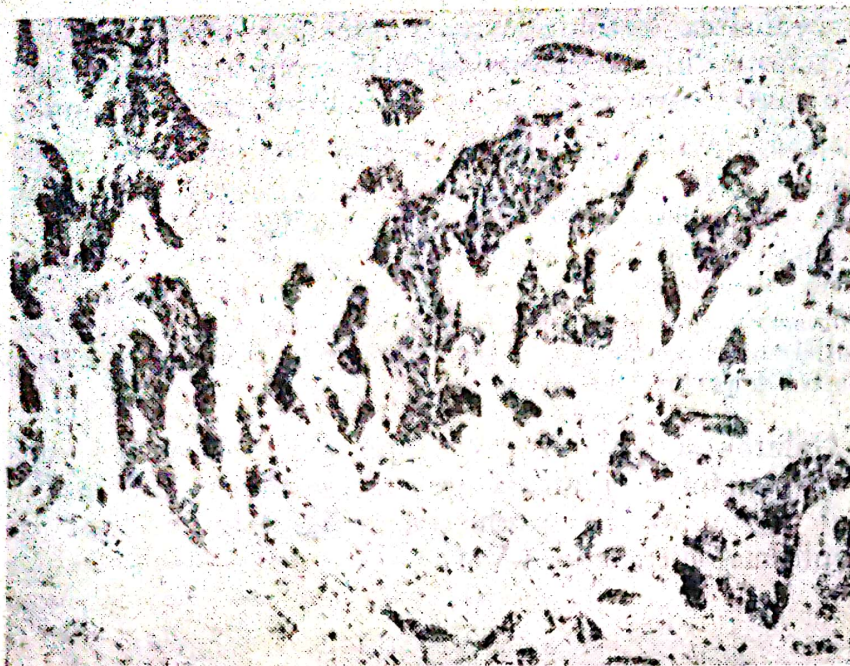


Fig. 4.19. — Carcinom trabecular mamar, malignitate de grad ridicat, H-E, 70 x.

Revelatoare este analiza supraviețuirii la 5 ani a bolnavelor cu cancer ovarian în raport cu tipul histologic tumoral și stadiul clinic al bolii (tabelul 4.VIII) (Chiricuță, 1981).

TABELUL 4.VIII

Tip histologic	Supraviețuire la 5 ani			
	Stadiu I	II	III	IV
Adenocarcinom mucipar	73%	56%	21%	3.5%
Adenocarcinom endometrioid	76%	60%	16%	6%
Adenocarcinom seros	61%	50%	16%	5%
Carcinom nediferențiat	38%	21%	0	0

În consens cu cele arătate este constatarea lui Botella Llusia (1970), referitoare la relația existentă între tipul histologic al cancerelor colului uterin și invazia ganglionară regională, aceasta avînd incidența cea mai scăzută în carcinoamele bazocelulare și cea mai ridicată, în adenocarcinoame. Carcinoamele spinocelulare ocupă o poziție intermediară (tabelul 4.IX).

TABELUL 4.IX

Stadia clinice	Metastaze ganglionare în %		
	cc. bazocelular	cc. spinocelular	Adenocarcinom
I	7,3	23	44,4
II	13,6	51,2	84,2
III	18	59,3	82,3

Tipul histologic reprezintă criteriul dominant în aprecierea prognosticului carcinoamelor tiroidiene, depășind valoric indicatori ca stadiul clinic, atît de util în cele mai variate cancere. Arătăm în continuare rata supra-

vietuirii principalelor carcinoame tiroidiene în stadii incipiente T_1 — T_2 (statisticile: Ackerman — Del Regato), 1977 (I), Lucot și Boneu, 1978 (II), Staunton și Skeet, 1979 (III), Mondesert, citat de Guinet și colab. 1979 (IV) — tabelul 4.X. T_1 definește un nodul unic, cu sau fără deformarea glandei, care rămîne mobilă, iar T_2 , noduli multipli, situați într-un singur lob, cu sau fără deformarea glandei, care rămîne mobilă (Chiricuță și Gavrilesco, 1981).

TABELUL 4.X

Tipul histologic	Supraviețuire în %							
	5 ani				10 ani			
	I	II	III	IV	I	II	III	IV
CC papilifer	84—93	81	85	90	84—93	67	80	80
CC foliular	84—92	70	68	64	65—88	64	45	46
CC medular	48	58	60	—	12	28	—	—
CC nediferențiat	0—16	—	15	3	0	—	9	0

Valoarea prognostică a tipului histologic al tumorilor nu este însă absolută, comportamentul lor fiind influențat, printre alți factori și de sediul primar al acestora. Adenocarcinomul coloid mamar, bunăoară, are un prognostic mai bun decît tumoarea omonimă rectală.

4.5.3.

Invadarea vaselor sangvine și limfatice

Invadarea vaselor sangvine și limfatice de către formația proliferativă tumorală reflectă iminența fenomenului de diseminare a acestuia și constituie astfel nu numai un criteriu sigur de diagnostic al malignității, ci și un indicator prognostic. Ilustrative pentru valoarea prognostică a invaziei vaselor sangvine sînt rezultatele studiului efectuat de Talbot și colab. (1980) pe 703 adenocarcinoame rectale. Supraviețuirea la 5 ani postoperator este de 73% în cazurile fără invazie venoasă, de 66% în cele cu invazie venoasă intramurală, de 33% în cazurile cu invazie venoasă extramurală, atingînd proporția minimă de 19% cînd venele afectate sînt de calibru mare, cu perete gros.

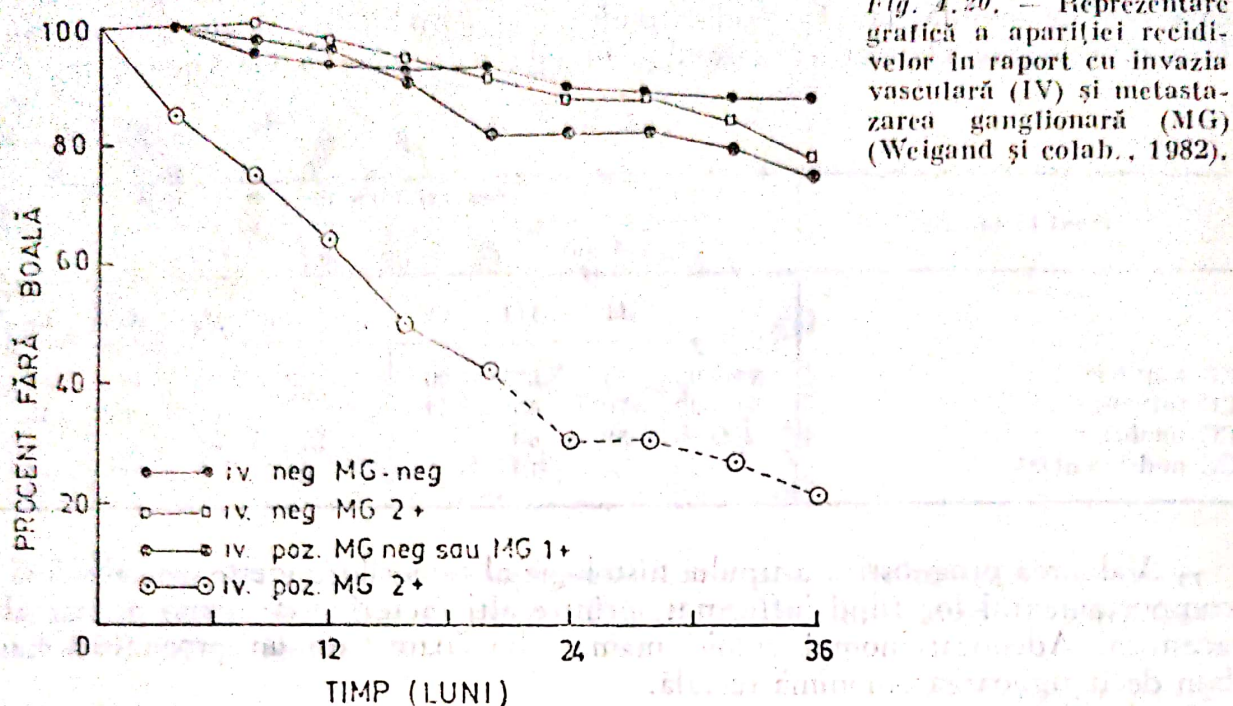
Invazia vasculară s-a dovedit un indicator util al recidivelor cancerelor mamare în primii 2 ani după mastectomie. Incidența acestora este de 70% la bolnavele cu invazie vasculară și metastaze în 2 sau mai mulți ganglioni axilari și de numai 15% în cazurile fără invazie vasculară, indiferent de situația ganglionilor sau cu invazie vasculară, dar fără metastaze (Weigand, 1982) (fig. 4.20).

4.5.4.

Extinderea parietală a tumorilor organelor tubulare

Extinderea parietală a tumorilor organelor tubulare se apreciază pe piesele operatorii și prelevările biopsice multiple, în funcție de profunzimea infiltrării neoplasmului. Aceasta este notată convențional cu litera P, la care se adaugă un coeficient de la 1 la 4, atribuit în raport cu structurile parietale infiltrate.

Tumorile gastrice sînt departajate, de exemplu, în funcție de stratul cel mai profund interesat de proliferarea tumoral-mucoasă, submucoasă, musculară (fig. 4.21), subseroasă, supraviețuirea la 5 ani după gastrectomie scăzînd di-



rect proporțional cu întinderea infiltrației, așa cum se poate constata din observațiile a 14 centre japoneze, publicate de OMS (citată de Lambert, 1975) (tabelul 4.XI). Același material arată progresiunea metastazării limfatice în paralel cu profunzimea extensiei parietale.

Yamagata (1971), citat de Lambert (1975) stabilește pe 794 cancere gastrice, o relație izbitoră între supraviețuirea la 5 ani și extensia în profunzime a tumorii: — 93,4% în formele superficiale; 69,9% în formele interesînd musculara și 38,2%, în formele invadînd seroasa.

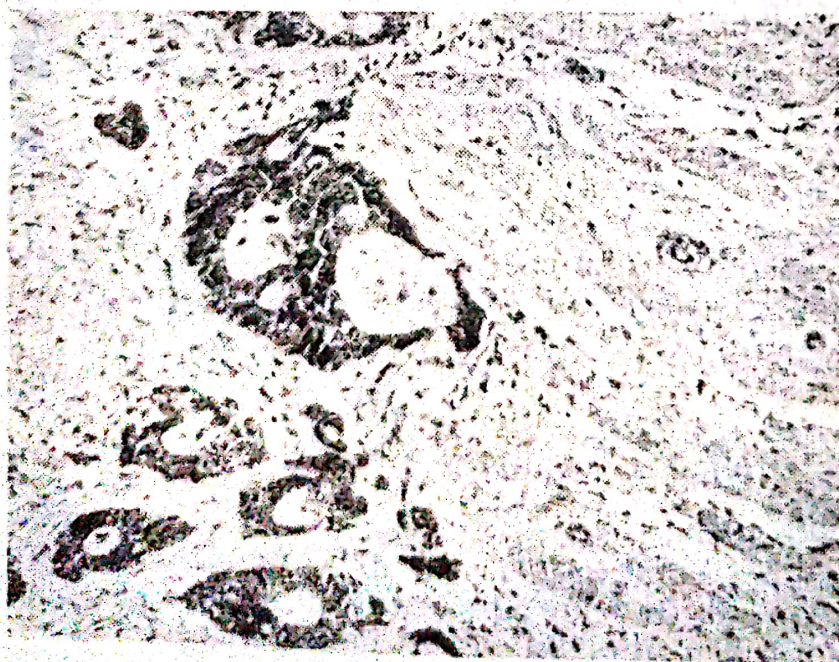


Fig. 4.21. — Adenocarcinom gastric infiltrat în stratul muscular, H-E, 140 x.

TABELUL 4.XI

Pătrundere	Supraviețuire 5 ani fără metastaze ganglionare	Metastaze ganglionare
Mucoasa gastrică	91,8%	7%
Submucoasă	89,5%	26%
Musculară	81,2%	55%
Subseroasă	80,8%	76%
Seroasă — suspiciune	62,4%	74%
— certitudine	40,1%	87%

În cazul tumorilor endometriale, făcînd abstracție de variantele limitate la endometru, pătrunderea în miometru este împărțită în 3 grade, etichetate după cum urmează: superficială, cînd interesează mai puțin de jumătate din grosimea peretelui uterin; profundă, cînd depășește aceeași limită și totală, cînd este interesat întregul perete al corpului uterin, inclusiv seroasa, sau sînt prezente metastazele (Robboy, 1979).

Pătrunderea cancerelor corpului uterin pînă în stratul subseros și invadarea seroasei peritoneale agravează mult prognosticul, deoarece prin rețeaua limfatică subseroasă, ca și prin descuamarea celulelor maligne în pelvis, se grăbește diseminarea neoplasmelor în organele vecine (Chiricuță, 1981).

4.5.5.

Reacția stromei tumorale

Stroma-reacția a suscitat un interes deosebit, fiind considerată ca elementul cel mai eficient în aprecierea relației existente între gazdă și tumoare. Principalele modificări ale stromei tumorale sînt: fibroza interstițială și infiltrația limfocitară (fig. 4). În funcție de intensitatea fibrozei, tumorile pot fi clasificate în 3 tipuri: — tipul medular, sărac, în stromă fibroasă; — tipul schiros, caracterizat prin fibroză intensă; și — tipul intermediar (Lambert, 1975).

Infiltrația limfocitară a tumorilor evoluează în general în sens invers ca fibroza, fiind abundentă în variantele medulare. Evoluția cunoștințelor de imunologie din ultimii ani a sugerat interpretarea infiltrației limfocitare stromale ca o reacție imunitară protectoare a gazdei față de tumoare.

Black (1971) constată că supraviețuirea la 5 ani după gastrectomie a bolnavilor cu cancer gastric variază în raport cu intensitatea fibrozei, aceasta fiind de 42% în adenocarcinoamele banale, cu fibroză redusă și de 23% în carcinoamele schiroase. Hawlew (1970) (citată de Lambert, 1975) subliniază prognosticul favorabil al cazurilor cu cancer gastric cu o infiltrație limfocitară masivă. Asocierea infiltrației limfocitare cu gradul ridicat de diferențiere nucleară și hiperplazia foliculară a ganglionilor regionali, constituie, în optica lui Black (1971), un criteriu prețios de apreciere a evoluției cancerelor gastrice. Supraviețuirea este de 68% în prezența acestor parametri și de 25% în absența lor.

Studii întreprinse în instituții de mare prestigiu, cum sînt Institutul Gustave Roussy-Villejuif și Institutul Curie din Paris, au dus la concluzii discordante privind semnificația prognostică a reacției stromale din cancerele colului uterin. Astfel, Herovici (1963) împarte neoplasmale colului uterin în

funcție de calitatea stromei conjunctive peritumorale, în 3 grupe, cu prognostic diferit: — grupa A, neoplasmele cu stromă-reacție intensă, care circumserie bine masa proliferativă tumorală sînt radiosensibile, nu dau metastaze ganglionare, supraviețuirea este mai îndelungată; — grupa B, neoplasmele cu stromă-reacție redusă, fără modificări patologice în structura stromei, sînt radiorezistente, metastazarea ganglionară este posibilă, iar supraviețuirea de scurtă durată; — grupa C, neoplasmele cu stromă-reacție redusă, cu hialinizare, necroză fibrinoidă a vaselor, edem peritumoral, sînt radiorezistente, metastazează frecvent, iar supraviețuirea este de foarte scurtă durată.

Observațiile lui Herovici au fost confirmate printre alții și de Bellon (1963), care, într-un studiu pe 80 de cancere ale colului uterin constată că prognosticul apreciat prin prisma supraviețuirii la 5 ani și a metastazării ganglionare este cu atît mai favorabil, cu cît reacția stromală este mai intensă (tabelul 4. XII).

TABELUL 4. XII

Grupa tumorală	A	B	C
Metastazarea ganglionară	5%	30%	45%
Supraviețuirea la 5 ani	92,2%	69,6%	56,25%

4.5.6.

Ritmul de creștere a tumorilor

Evaluat prin stabilirea indicelui mitotic, ritmul de creștere a tumorilor este coroborat cu creșterea cantității de cromatină nucleară. Indicele mitotic se stabilește prin cuantificarea celulelor în mitoză pe unitatea de suprafață sau cîmp microscopic la mărire puternică, raportată la numărul celulelor în interfază. Se consideră că un indice mitotic ridicat semnifică o proliferare tumorală activă și deci un ritm de creștere accelerat, dar paralelismul dintre cei doi parametri nu constituie o regulă generală (Cabanne și Bonenfant, 1980).

4.5.7.

Grading-ul histo-citologic

Cea mai folosită și valoroasă metodă de evaluare microscopică a malignității cancerelor și deci de apreciere prognostică a acestora, grading-ul histo-citologic este în egală măsură util stabilirii conduitei terapeutice în boala canceroasă.

Ierarhizarea malignității cancerelor se bazează pe relația strînsă care există între comportamentul lor clinic-biologic și gradul diferențierii histo-citologice a parenchimului tumoral, în virtutea căreia tumorile sînt cu atît mai maligne, cu cît sînt mai puțin diferențiate și au o malignitate cu atît mai redusă, cu cît sînt mai bine diferențiate. Așa cum am văzut anterior, nivelul diferențierii neoplasmelor se stabilește în funcție de asemănarea structurală a parenchimului tumoral cu țesutul matriceal normal. Promotorul conceptului de *grading* a fost Hansemann, 1893, căruia îi aparține ideea aprecierii histologice a malignității în raport cu gradul devierii de la aspectul microscopic normal (Simu, 1977).

Criteriile grading-ului microscopic (diferențierea histo-arhitecturală, anaplazia celulară, indicele mitotic) sînt utilizate fie individual, în scheme simple de grading, fie prin juxtapunere, în sisteme complexe.

Gradele de malignitate histo-patologică sînt notate convențional cu litera G, la care se adaugă un indice de la 1 la 4, în ordinea crescîndă a malignității neoplasmelor. Astfel, G₁ corespunde unei malignități reduse, G₄, malignității celei mai ridicate, G₂ și G₃ ocupînd poziții intermediare între precedentele niveluri.

Unul din cele mai utilizate este grading-ul histologic, care ia în considerație nivelul diferențierii histo-arhitecturale a tumorilor, aplicabil îndeosebi carcinoamelor tractului digestiv, genital feminin, ovarelor etc.

Neoplasmelor stomacului, de exemplu, pot fi clasificate în 4 grade progresive de diferențiere, extinse de la ortoplazie pînă la anaplazie, supraviețuirea la 5 ani după rezecția gastrică fiind cu atît mai redusă, cu cît tumorile sînt mai puțin diferențiate, așa cum rezultă din tabelul 4. XIII.

TABELUL 4. XIII

Tip tumoral	Caractere histoarhitecturale	Supraviețuire la 5 ani	
		Dochat, 1943	McNeer, 1967
I	Arhitectura glandulară gastrică conservată	100%	66,7%
II	Formațiuni glandulare rare	45,6%	38,9%
III	Lumene glandulare foarte rare	39,4%	30,5%
IV	Structuri glandulare absente	20,9%	11,4%

(Dochat și Gray, 1943; McNeer și colab. 1967, citați de Lambert, 1975)

Carcinoamele ovariene sînt împărțite în funcție de acest criteriu de grading în 3 grade, în funcție de proporția în care acestea prezintă structuri papilifere și glandulare: — gradul 1, cu malignitate redusă, cuprinde neoplasmelor bine diferențiate, formate în întregime din formațiuni papilifere sau glandulare; — gradul 3 reunește tumorile cu malignitatea cea mai ridicată, formate dintr-o masă proliferativă compactă, lipsită de diferențiere glandulară; — gradul 2, ocupă o poziție intermediară, tumorile fiind formate dintr-un amestec de placarde compacte și structuri glandulare-papilifere (Ozols și colab. 1980).

De o apreciere largă se bucură grading-ul Broders, inițiat în 1926, bazat pe evaluarea nivelului diferențierii celulare, aplicabil deopotrivă carcinoamelor și sarcoamelor cu cele mai variate localizări. Broders a stabilit 4 grade de malignitate în funcție de proporția celulelor nediferențiate din parenchimul tumoral și anume: gradul 1, se atribuie tumorilor care conțin 0—25% celule nediferențiate gradul 2, tumorilor cu 25—50% celule nediferențiate; gradul 3, celor cu 50—75%, iar gradul 4, tumorilor conținînd 75—100% celule nediferențiate.

Experiența clinicii Mayo pe 730 de cazuri de cancer ovarian de toate tipurile histologice a demonstrat că grading-ul Broders are valoare prognostică în fiecare din stadiile clinice, corelația acestora cu supraviețuirea fiind mai evidentă în stadiile I și II ale bolii (Ozols și colab. 1980). Studiul efectuat de Young și Fisher (1978) în aceeași clinică, relevă în stadiul I al chistadenocarcinoamelor ovariene o supraviețuire la 5 ani, net diferită în raport cu

grading-ul Broders: 80% pentru gradul I; 47% în gradul II; și 10% pentru gradul III și IV.

Principiul grading-ului Broders a servit elaborării a numeroase sisteme de grading, constituind adaptări pentru fiecare categorie tumorală sau sediu primar al acestora, adaptări determinate de trăsăturile morfo-funcționale distincte ale neoplasmelor, ca și de variația nivelului de diferențiere de la un țesut normal la altul. Un astfel de sistem, incluzând criteriile diferențierii histologice și citologice este utilizat în stabilirea prognosticului cancerelor endometriale. Acestea sînt împărțite în 4 grade de malignitate:

- gradul I — tumori cu structură glandulară, celule bine diferențiate, cu citoplasmă abundentă;
- gradul II — tumori cu diferențiere glandulară extinsă și celule cu nucleu mari și citoplasmă cantitativ redusă;
- gradul III — tumori formate dintr-un amestec de structuri glandulare și placarde solide, compuse din celule cu nucleu mari și citoplasmă puțină;
- gradul IV — tumori lipsite de diferențiere glandulară, cu celule anaplastice (Robboy, 1979).

Un grading Broders modificat este și schema introdusă de Dukes în 1964, care împarte cancerul intestinului gros în 3 grade de malignitate:

- gradul I — tumori cu malignitate redusă, asemănătoare adenoamelor, care prezintă indicii de proliferare epitelială activă și infiltrează musculara mucoasei;
- gradul II — tumori cu malignitate medie, ale căror celule sînt mai conglomerate, dar păstrează o distribuție destul de regulată, pe unul sau două straturi în jurul lumenului glandular. Nucleii sînt hipereromi, iar mitozele atipice sînt destul de frecvente;
- gradul III — tumori cu malignitate ridicată, alcătuite din celule mai puțin diferențiate, dispuse în structuri glandulare neregulate, pe două sau trei straturi sau în placarde compacte. Mitozele sînt mai numeroase decît în stadiul precedent.

Carcinoamele mucipare constituie o categorie aparte, dată fiind imposibilitatea clasificării lor conform sistemului de grading prezentat mai înainte (Golligher și colab. 1977).

Valoarea prognostică a grading-ului Dukes a fost confirmată de numeroși autori, printre care și Talbot (1980), care înregistrează o supraviețuire la 5 ani postoperator a bolnavilor cu cancer rectal, de: 96% în gradul I, 78% în gradul II și respectiv 31% în gradul III.

Grading-ul histo-citologic și-a dovedit utilitatea și în evaluarea prognosticului sarcoamelor. Un exemplu concludent îl constituie grading-ul condrosarcoamelor, pe care Pritchard (1980) le departajează în trei grade de malignitate. Supraviețuirea la 10 ani este de 77%, în gradul I de malignitate; de 59% în gradul II și de 36% în gradul III. Supraviețuirea la 2 ani a bolnavilor cu diferite sarcoame ale țesuturilor moi, tratate complex (chirurgical, radio- și chimioterapie), scade progresiv cu creșterea gradului de malignitate a acestora: 86% în gradul I; 51% în gradul II și 17% în gradul III (Suit și colab. 1975).

În Institutul Oncologic Cluj-Napoca, utilizăm un sistem complex de grading al carcinoamelor mamare invazive, elaborat sub egida OMS, în baza criteriilor propuse de Bloom și Richardson, 1957 (cit. de Simu, 1977): diferențierea glandulară, pleomorfism celular și anomalii nucleare. Fiecăruia din cele

trei criterii i se atribuie un punctaj de la 1 la 3, în funcție de intensitatea modificărilor cito-histologice (vezi tabelul 4. XIV), totalul punctajului acumulat exprimând gradul sau indicele de malignitate a tumorii.

TABELUL 4. XIV

GRADING CITOLOGIC AL CANCERELOR MAMARE,OMS

Criterii	Punctaj
— formare de canalicule:	
— netă	1 punct
— moderată	2 puncte
— redusă sau absentă	3 puncte
— numărul mitozelor — hipereromatism:	
— rareori o mitoză pe cîmp	1 punct
— 2—3 mitoze în majoritatea cîmpurilor	2 puncte
— mai mult de 3 mitoze pe cîmp	3 puncte
— aspect nuclear (talie, formă, colorare):	
— uniformitate a caracterelor	1 punct
— variație moderată	2 puncte
— pleomorfism marcat	3 puncte

Tumorile care întrunesc 3—5 puncte sînt încadrate în gradul I, de malignitate redusă (fig. 4.17), cele totalizînd 6—7 puncte sînt încadrate în gradul II, de malignitate medie (fig. 4. 18), iar cele cu 8—9 puncte, în gradul III, de malignitate ridicată (fig. 4. 19). În tabelul 4. XV este prezentată rata supraviețuirii la 5 și 10 ani a bolnavelor cu cancer mamar operat, înregistrată de autorii acestui sistem de grading, comparativ cu experiența Institutului Oncologic Cluj-Napoca (Galatâr și Galatâr, 1981), pe 157 cazuri urmărite 5 ani după mastectomie radicală.

TABELUL 4.XV

Grad de malignitate	Bloom-Richardson		Inst. Oncologie Cluj-N.
	5 ani	10 ani	5 ani
I	75%	45%	5—100%
II	53%	27%	58—64,4%
III	31%	18%	37—59%

Edificator pentru modul cum este conceput un sistem complex de grading adaptat unei forme particulare de cancer, dintr-un anumit sediu este grading-ul carcinoamelor pavimentoase ale cavității bucale (Meissner și Diamandopoulos, 1977) (tabelul 4. XVI).

Deși inițiat în deceniul al 3-lea al secolului nostru, grading-ul histo-citologic al cancerelor a intrat destul de tîrziu în practica prosecturală curentă. Datorită utilității clinice, demonstrată de numeroase lucrări, grading-ul histo-citologic a devenit în prezent o parte componentă indispensabilă a diagnosticului complet al cancerelor.

Valoarea sa prognostică, superioară altor modalități de evaluare a malignității cancerelor, bazate pe criterii clinice și anatomo-patologice este subli-

TABELUL 4.XVI

Criterii cito-morfologice	Grad de malignitate		
	I	II	III
Indicatori ai diferențierii			
— punți intercelulare	+	±	0
— cheratinizare	+	+	±
— perle epiteliale	+	±	0
Indicatori ai proliferării rapide			
— mitoze / cimp	2	2—4	4
— mitoze atipice	0	±	+
Pleomorfism nuclear și celular	±	+	+
Celule multinucleate și gigante	0	0	+

niată convingător, printre altele și de studiul întreprins de Malkasian și colab. 1977 în clinica Mayo (citată de Chiricuță, 1981), pe o serie reprezentativă de cancere ale corpului uterin. Acești autori constată că supraviețuirea la 5 ani a bolnavelor cu cancer incipient, în stadiul I, dar cu grad de malignitate ridicat — G₃, este mai redusă decât a celor cu cancer avansat — stadiul III.

TABELUL 4.XVII

Stadiul clinic	Grad de diferențiere	Supraviețuire
St. I	T 1	88%
A	G 3	65,2%
B	G 1	97,5%
B	G 3	37,5%
St. II		75%
St. III		59,1%

Rezervele manifestate de unii anatomo-patologi în privința aplicabilității grading-ului histo-citologic anumitor categorii de tumori se datorește în primul rând neomogenității structurii histologice a acestora și posibilității variației în timp a gradului lor de diferențiere. Inconveniente arătate pot fi, cel puțin în parte, înlăturate prin examinarea mai multor fragmente prelevate din zone diferite, luându-se în considerație, în eventualitatea neomogenității histologice, gradul cel mai ridicat de malignitate.

Grading-ul histo-citologic își arată întreaga valoare când este aplicat pe un număr mare de cazuri, urmărite cel puțin 5 ani, de un anatomo-patolog avizat, cu experiență îndelungată în acest domeniu. Este, de asemenea, recomandabilă explorarea concomitentă a unor grupuri mari de cazuri, făcându-se abstracție de datele privind durata evoluției bolii, vârsta bolnavului, prezența sau absența metastazelor etc., criterii importante de evaluare a prognosticului clinic.

Valoarea majoră a grading-ului se situează mai degrabă în domeniul prognosticului de grup, decât în cel al cazurilor individuale.

Privind cu obiectivitate grading-ul histo-citologic considerăm judicioasă afirmația lui Bloom (citată de Simu, 1977) că acesta este numai un ghid și nu o metodă care prezice evoluția bolii cu precizie matematică, un ghid util în alegerea celui mai nimerit tratament pentru cazul dat.

4.5.8.

Invazia ganglionilor limfatici loco-regionali

Invadarea ganglionilor este un criteriu sigur de apreciere a prognosticului cancerelor, rata supraviețuirii fiind semnificativ diferită în funcție de prezența sau absența fenomenului de diseminare limfatică (tabelul 4. XVIII). Mai mult, supraviețuirea scade proporțional cu creșterea numărului ganglionilor metastazați și este într-o relație inversă cu extensia invaziei ganglionare în teritoriul regional.

TABELUL 4. XVIII

Cancer	Autori	Supraviețuire	
		Metastaze limfoganglionare	
		Absente	Prezente
Mamar	Handley, 1962, citat de Bologa, 1977 Simu, 1977 (200 cazuri)	80% 73% 76%	13% 0 43% 5 ani 10 ani
Gastric	McNeer și colab. 1967 Hawley și westerholm, 1970 Zachó și colab. 1974 Remine și colab. 1964, citați de Lambert, 1975	44% 40,5% 55% 47,9%	14,8% 11,5% 10% 14,2% 5 ani
Col uterin	Chiricuță și Rișcă, 1963 citați de Chiricuță, 1976		5 ani
stadiu I		92,8%	60%
stadiu II		81,4%	14,3%

La 383 de cancere gastrice, supraviețuirea după rezecție a fost de 75% în absența metastazelor ganglionare, de 48% când invazia ganglionară era în stadiul I, 24% în stadiul II și 8% în stadiul III (Kajitani, 1968, citat de Lambert, 1975).

O imagine asupra dinamicii invaziei ganglionare a cancerelor mamare o oferă limfadenograma axilară, realizată prin tehnica Chiricuță-Simu (Simu, 1977). Piramida grăsoasă axilară este marcată intraoperator, la vîrf și la bază, fixată într-o soluție fixatoare-clarifiantă și apoi secționată în felii multiple de 1 cm grosime, paralele cu baza axilei. Ganglionii limfatici astfel izolați sînt prelevați în secțiuni separate, în funcție de poziția lor în piramidă, iar rezultatele sînt consemnate în reprezentarea grafică a acestora. Prezența metastazelor ganglionare identificată microscopic, este de asemenea consemnată în adenogramă.

La 200 de bolnave cu cancer mamar, urmărite 5 ani după mastectomia efectuată în institutul nostru, supraviețuirea a fost de 76% la cele fără metastaze ganglionare axilare și doar de 43% la cele cu metastaze. Constatarea unei diferențe concludente a proporției de supraviețuiri în raport cu etajul

axilar interesat: 58%, cînd erau afectați numai ganglionii din treimea inferioară a axilei față de 29%, în cazurile cu invazia axilei superioare, confirmă opinia lui Chiricuță (1962), potrivit căreia, de cele mai multe ori, invazia ganglionilor axilari se face progresiv, de la grupele ganglionare bazale spre grupele din axila centrală și apoi cea superioară, trecerea de la un grup la celălalt făcîndu-se numai după prealabila depășire a nivelului inferior. Interesarea ganglionilor apicali înrăutățește foarte mult prognosticul, în special dacă există fenomene de periadenită canceroasă, adică infiltrarea și depășirea capsulei ganglionare de către țesutul neoplazic. Prognosticul infaust indicat de acest fenomen a fost înregistrat și pentru alte localizări ale cancerului. Chiricuță (1976) constată că aproape toate cazurile de cancer al colului uterin care au avut periadenită canceroasă, au sucombat, indiferent de amplitudinea limfadenectomiei și natura radioterapiei aplicate.

Invazia ganglionilor limfatici regionali este influențată considerabil de parametri macro- și microscopici ai tumorilor primare. Frecvența metastazelor ganglionare axilare crește în paralel cu creșterea în volum a tumorii mamare (Bologa și Simu, 1977). Același fenomen se înregistrează în paralel cu progresiunea de la tipul I la tipul IV de forme macroscopice, gradul de diferențiere histologică și extensiunea în profunzime a cancerelor gastrice (McNeer și colab. 1967; Fujimaki, 1972, citat Lambert, 1975).

Tipul histologic al tumorilor, reacția stromală și calitatea stromei conjunctive peritumorale, condiționează în mod hotărîtor invazia ganglionară regională a cancerului de col uterin, așa cum am văzut anterior (Botella Llusia, 1970; Herovici, 1963). Însăși propagarea limfatică a neoplasmului este determinată de localizarea tumorii maligne, fapt demonstrat pentru cancerul gastric, mamar, uterin etc.

4.5.9.

Modificările histologice ale ganglionilor limfatici sateliți

Histiocitoza sinusală, hiperplazia centrilor germinativi, hiperplazia zonei paracorticale sînt expresia reacției imunitare a țesutului limfoid loco-regional, cu posibil rol protector față de proliferarea și diseminarea neoplazică.

Hiperplaziei de histiocite care umplu și destind sinusoidale ganglionilor limfatici, denumită histiocitoză sinusală, i s-a atribuit semnificația de indicator prognostic favorabil al carcinoamelor din cele mai variate localizări.

Black și colab. 1953 (citați de Simu, 1977) consemnează asocierea frecventă a acestei modificări cu supraviețuirea la 5 ani a bolnavilor de cancer mamar, ca și variația ratei de supraviețuire în raport cu intensitatea histiocitozei: 59%, pentru gradele 0-1; 69%, pentru gradul 2 și 86%, pentru gradele 3-4.

În acord cu interpretarea dată histiocitozei sinusale este coincidența acesteia cu alte modificări microscopice sugestive pentru rezistența imună a organismului, cum sînt de exemplu infiltratele limfoide perivenoase din stroma tumorală.

Revelatoare este de asemenea cercetarea efectuată de Mattheim (1963), care împărțind ganglionii pelvieni ai cazurilor de cancer de col uterin în două grupe, în funcție de intensitatea reacției lor histiocitare, constată o supravie-

tuire de 47% a bolnavelor cu reacție nulă sau foarte slabă și de 81% a celor cu reacție histiocitară medie sau intensă.

Semnificație prognostică favorabilă o are, în opinia lui Simu și Csaba (citați de Simu, 1977), prezența unui număr mare de mastocite tinere în tumoarea primară și ganglionii axilari ai bolnavelor de cancer mamar. Prin contrast, în cazurile cu metastaze, numărul mastocitelor este mai redus, predominând formele mature ale acestora.

4.5.10.

Stadializarea TNM a cancerelor

Pentru evaluarea extinderii tumorilor maligne netratate, într-un moment oarecare al evoluției lor, bazată pe explorarea clinică, intraoperatorie, radiologică, endoscopică suplimentată cu date oferite de alte metode de investigație paraclinică, sînt luate în considerație caracterele tumorii primare (dimensiuni, raporturi cu țesuturile adiacente) desemnate prin inițiala T, prezența și extinderea metastazelor în limfoganglionii loco-regionali, notate prin inițiala N (de la lymph node = ganglion limfatic, în limba engleză) și prezența metastazelor la distanță, notată cu M, combinarea celor trei evaluări marcînd stadiul evolutiv TNM al bolii.

Prin adăugarea la aceste simboluri a unor cifre — 0, 1, 2, 3, 4 — extinderea procesului neoplazic este clasificată pe grade, exprimînd mai fidel stadiul clinic al bolii.

Sistemul TNM are marele avantaj al aplicabilității la toate categoriile de cancere, cu adaptări specifice principalelor localizări ale acestora. Astfel, în cancerul mamar — T_0 desemnează situația în care tumoarea primară nu se decelează clinic; T_1 este rezervat tumorilor cu diametru sub 2 cm; T_2 , tumorilor cu diametru între 2 și 5 cm; T_3 , tumorilor cu diametru mai mare de 5 cm, iar T_4 , tumorilor care infiltrează peretele toracic sau pielea supraiacentă, deci aflate într-un stadiu avansat. N_0 etichetează absența adenopatiei axilare; N_1 , etichetează adenopatia axilară mobilă; N_2 , adenopatia fixată a aceleiași arii topografice, iar N_3 , adenopatia supraclaviculară, reflectînd o participare ganglionară avansată și în sfîrșit, M_0 și M_1 , notifică absența, respectiv prezența metastazelor la distanță.

Deoarece aprecierea clinică a stadialității este relativă și cuprinde inevitabil un indice de eroare, extinderea reală a procesului neoplazic se stabilește anatomo-patologic prin explorarea integrală a pieselor de exereză chirurgicală. Burghardt și Pickel (citați de Chiricuță, 1981), consideră că stadiul clinic al cancerului de col uterin corespunde celui histo-patologic numai în 40—52% din cazuri.

Stadializarea TNM, veritabilă stenogramă a extensiei clinice a tumorilor, cum a definit-o P. Denoix, inițiatorul acestui sistem, se bucură de o largă accepțiune, fiind introdusă în activitatea diagnostică și terapeutică a tuturor centrelor oncologice din lume. Valoarea sistemului TNM o constituie faptul că stadiul evolutiv al bolii pe care-l precizează, servește mai mult decît oricare alt criteriu la stabilirea indicației terapeutice, a amplitudinii exerezei chirurgicale. În același timp oferă posibilitatea analizei comparative, pe stadii de evoluție clinică, a eficacității tipurilor de tratamente aplicate.

Clasificarea cancerelor pe stadii de evoluție clinică are de asemenea o certă valoare prognostică de apreciere a șanselor de vindecare. Vindecarea la

5 ani a bolnavelor cu cancer de col uterin, tratate complex, în institutul nostru, variază procentual semnificativ în funcție de stadiul clinic al bolii: 89,8%, în stadiul I; 74,1%, în stadiul II și 40%, în stadiul III (Chiricuță, 1981), rezultatele fiind apropiate de cele comunicate de alte prestigioase colective (Fletcher, Brunschwig, Kritter etc.).

Revelatoare sînt și datele privind supraviețuirea la 5 ani postoperator a cazurilor de carcinom de corp uterin sau de adenocarcinom ovarian, analizate în funcție de stadiul evolutiv al bolii (tabelele 4. VIII și 4. XVII).

Generalizarea sistemului TNM de clasificare a tumorilor maligne favorizează, prin introducerea unui limbaj comun, schimbul constructiv de opinii și experiență între centrele oncologice din toată lumea, în privința metodelor de tratament și evaluarea eficacității acestora.

Bibliografie

- ACKERMAN L. V. — Surgical pathology. C. V. Mosby, Saint Louis, 1964
- ASHLEY D. J. B. — Evans histological appearances of tumours, 3-th ed., Churchill Livingstone, Edinburg, 1978
- BELLON F. — *Bull. Cancer*, 1963
- BLACK M. B., FREEMAN C., MORK T., HARVEI S., CUTLER S. J. — *Cancer*, 1971, 27, 703—711.
- BOLOGA S., SIMU G. — Elemente de prognostic în cancerul mamar, în: „Cancerul sinului — Material de documentare și îndrumare metodologică” nr. 2, Institutul Oncologic Cluj-Napoca, 1977
- BOTELLA LLUSIA J. K. — *Acta Ginec.*, 1970, 22, 11, 820
- CABANNE F., BONENFANT J. L. — Oncologie generală, in idem, Anatomie Pathologique, Principes de pathologie générale et spéciale, ed. Maloine, S.A., Paris, 1980, p. 223
- CARPEN M., OPRIS I. — Prognosticul în cancerul de sin, în: „Cancerul sinului. Experiența românească — Material de documentare și îndrumare metodologică”, nr. 7, Institutul Oncologic Cluj-Napoca, 1981, p. 466—470
- CHENEVART PH., GLOOR R. — *Schweiz. Med. Wschr.*, 1980, 110, 14, 531—539
- CHIRICUȚĂ I. — Prognosticul cancerului de col uterin, în: Cancerul colului uterin. Material de documentare și îndrumare metodologică”, nr. 1, Institutul Oncologic Cluj-Napoca, 1976, p. 154—171
- CHIRICUȚĂ I. — Indicația terapeutică și locul chirurgiei în tratamentul cancerului de corp uterin: în: Sirbu P. — Chirurgia ginecologică, Ed. medicală, București, 1981, p. 923
- CHIRICUȚĂ I. — Indicația terapeutică și locul chirurgiei în tratamentul cancerului ovarian, în: Sirbu P., Chirurgia ginecologică, Ed. medicală, București, 1981, p. 975
- CHIRICUȚĂ I., GAVRILESCU T. H. — *Viața med.*, 1981, 28, 3, 121—129
- GALATĂR NATALIA, GALATĂR S. — Importanța practică pentru clinician a gradului de malignitate, în cancerul sinului. Experiența românească. Materiale de documentare și îndrumare metodologică, nr. 7, Institutul Oncologic Cluj-Napoca, 1981, p. 407—411
- GOLIGHER J. C., DUTHIE H. L., NIXON H. H. — Histological features — tumour grading, in idem, Surgery of the anus, rectum and colon, Baillière Tindall Londra, 1977, p. 491
- GULLINO P. M. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1978, 61, 3, 639—643
- HEROVICI C. — *Bull. Cancer*, 1963, 50, 4, 519—521
- LAMBERT R. — *Arch. Mal. Appar. dig.*, 1975, 64, 8, 679—696
- LANSAC J. — *Rev. franç. Gynéc.*, 1973, 68, 5, 331—344
- LATTES R. — *Path. Res. Pract.*, 1980, 414—429
- MATTHEIEM W. — *Bull. Cancer*, 1963, 50, 4, 485—490
- MEISSNER W. A., DIAMANDOPOULOS G. TH. — Neoplasia, in Anderson, W. A. D.; Kissane J. M., Pathology, 7-th ed., C. V. Mosby Co., Saint Louis, 1977, p. 640—691
- MORARU I., NICOLESCU P. G. — Boala canceroasă și aberații în creșterea și morfologia celulelor și a țesuturilor, în: Moraru I., Anatomie patologică, Ed. Medicală, București, p. 278
- OZOLS R. F., GARVIN A. J., COSTA J., SIMON R. M., YOUNG R. C. — *Cancer*, 1980, 45, 3, 572—581

- PARK W. W. — The histology of borderline cancer, Springer Verlag, Berlin, 1980
- PRITCHARD D. J., LUNKE R. J., TAYLOR W. F., DAHLAN D. C., MEDLEY B. E. — *Cancer*, 1980, 45, 1, 149—157
- REAGAN J. W., WENTZ W. B. — *Clin. Obstet. Gynec.*, 1967, 10, 4, 883—921
- ROBBINS S. L. — Neoplasia. Clinical aspects of neoplasia., in idem, Pathologic basis of disease, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1974, p. 106 și 144
- ROBBY S. J., BRADLEY R. — *Obstet. Gynecol.*, 1979, 54, 3, 269—277
- SIMU G. — Probleme practice de anatomie patologică a cancerului mamar, in: Cancerul și nului Materiale de documentare și îndrumare metodologică, nr. 2, Institutul Oncologic Cluj-Napoca, 1977, p. 80—101.
- SUIT H. D., RUSSELL W. O., MARTIN R. G. — *Cancer*, 1975, 35, 5, 1478—1483
- TALBOT I. C., RITCHIE SHEILA, LEIGHTON MONICA, HUGHES A. D., BUSSEY H. R. J., MORSON B. C. — *Brit. J. Surg.*, 1980, 67, 6, 439—442
- WOLFF P. J., ROUQUETTE G., GUILLOUX A. — *Rev. Franç. Gynecol. Obstet.*, 1968, 4, 145
- YOUNG G. R., FISHER I. R. — *Canad. Med. Ass. J.*, 1978, 117, 8, 249
- WEIGAND R. A., ISENBERG W. M., RUSSO J., BRENNAN M. J., RICH M. A. — *Cancer*, 1982, 50, 1, 962—969

5.

Citologia cancerelor: Importanța pentru diagnostic în clinica tumorilor maligne

NATALIA GALATĂR

Cuprins

- 5.1. Generalități — 184
 - 5.1.1. Introducere — 184
 - 5.1.2. Istoric — 185
 - 5.1.3. Metode de diagnostic citologic — 185
 - 5.1.3.1. Citodiagnosticul exfoliativ — 186
 - 5.1.3.2. Citodiagnosticul prin puncție — 186
 - 5.1.4. Interpretarea frotiurilor citologice — 186
 - 5.1.4.1. Criteriile citomorfologice de apreciere a malignității — 186
 - 5.1.4.2. Clasificarea Papanicolau — 187
- 5.2. Diagnosticul citologic în principalele localizări ale cancerului — 187
 - 5.2.1. Cancerul colului uterin — 188
 - 5.2.2. Cancerul corpului uterin — 192
 - 5.2.3. Cancerul bronho-pulmonar — 192
 - 5.2.4. Cancerul tubului digestiv — 194
 - 5.2.5. Cancerul aparatului urinar — 196
 - 5.2.6. Cancerul mamar — 197
 - 5.2.7. Exsudatele maligne — 199
 - 5.2.8. Puncția ganglionară — 200

5.1.

Generalități

5.1.1.

Introducere

Examenul citologic este o metodă de diagnostic care se bazează pe interpretarea modificărilor morfologice ale celulelor din frotiuri.

Fără a dispune de criterii tot atât de precise în afirmarea malignității, ca examenul histopatologic, ceea ce permite doar stabilirea unei suspiciuni, examenul citologic prezintă în schimb unele avantaje și anume:

— fiind ușor de executat și avînd o prelucrare de laborator mai simplă și mai expeditivă, este prin excelență o metodă cu largă aplicabilitate în masă pentru depistarea îndeosebi a cancerului preclinic;

— oferă posibilitatea diagnosticării unor cancere cu localizări inaccesibile biopsiei, grație examinării celulelor tumorale eliminate prin umori naturale, recoltate prin spălătură sau extrase prin puncția tumorilor, organelor sau se-roaselor;

— prin studiul de finețe al morfologiei celulare, poate să aducă histo-patologiei unele criterii de orientare în special în hemopatiile maligne.

În felul acesta citodiagnosticul nu se substituie biopsiei, ci ambele metode se completează reciproc și trebuie să se asocieze între ele.

5.1.2.

Istoric

Începutul cercetărilor de citologie datează de mai bine de 100 de ani. Beale este primul care semnalează în 1860 prezența celulelor maligne în produ-sul de expectorație într-un caz de cancer faringian. Urmează publicații cu ca-racter sporadic în care se anunță descoperirea celulelor maligne în diferite pro-duse de secreție. Hamperl (1876 și 1887), Ménétrier (1886), Erlich (1891), Walske (1893) menționează prezența celulelor maligne în secrețiile bronșice la bolnavii cu cancere bronșice și pulmonare, iar Sanders (1864), Dickinson (1869) și Ferguson (1892) evidențiază celule tumorale în urina bolnavilor cu cancer vezical. Deși cercetările în acest domeniu devin din ce în ce mai numeroase, nu se întrevăd multiplele posibilități de aplicare a acestei metode.

În 1927, autorii români C. Daniel și A. Babeș comunică pentru prima dată în lume „posibilitatea” diagnosticului cancerului uterin prin frotiuri, enun-țînd totodată și principalele criterii citologice de malignitate. Din păcate, me-toda nu a trezit interesul decît mai tîrziu, după apariția în 1943 a lucrării lui Papanicolau și Traut, „Diagnosis of uterine cancer by the vaginal smear”.

Fără să aducă nimic nou în esența metodei, Papanicolau are marele me-rit de a fi perfecționat-o, punînd la punct tehnica de prelevare și colorare a frotiurilor și mai ales de a fi oferit un sistem clar și concis de interpretare gra-duală a semnificației lor prin elaborarea clasificării în 5 tipuri (clase, grade) folosite și în prezent.

Tot lui Papanicolau, îi revine meritul de a fi extins metoda și pentru in-vestigarea altor organe (plămîn, aparat urinar). În ceea ce privește aplicarea citodiagnosticului vaginal în diagnosticul cancerului colului uterin, prioritatea o au autorii români C. Daniel și A. Babeș.

Privit la început cu neîncredere, citodiagnosticul s-a impus treptat ca o metodă deosebit de valoroasă pentru depistarea și diagnosticul unor forme de cancer.

5.1.3.

Metode de diagnostic citologic

În funcție de localizarea tumorală diferă și tehnica de recoltare a produ-selor de examinat se deosebesc astfel două grupe principale de examinări ci-tologice:

— citodiagnosticul exfoliativ pe material provenit din produse de secre-ție și

— citodiagnosticul prin puncție tumorală (pe materialul obținut prin puncție).

5.1.3.1.

Citodiagnosticul exfoliativ

Citodiagnosticul exfoliativ se bazează pe capacitatea de exfoliere a celulelor, ca urmare a regenerării lor permanente și eliminarea lor prin diferite produse de secreție. În procesele neoplazice exfolierea celulară se accentuează, fiind favorizată și de scăderea adevizității celulare. Produsele de secreție se pot acumula în diferite cavități ale corpului, de unde pot fi recoltate fie direct de pe suprafața mucoaselor cu ajutorul instrumentelor, fie prin efectuarea unei spălături sau prin aspirație.

Prin simplitatea tehnică, examenul citologic exfoliativ are o aplicabilitate mai largă în diagnosticul principalelor localizări ale cancerului: aparatul genital feminin, aparatul respirator, tubul digestiv și aparatul urinar, putînd fi utilizat atît ca metodă de diagnostic individual, cît și ca metodă de depistare a formelor incipiente de cancer.

5.1.3.2.

Citodiagnosticul prin puncție

Citodiagnosticul prin puncție are indicații majore în tumorile inaccesibile biopsiei, sau cînd aceasta este contraindicată.

Pentru puncție se pot utiliza ace groase cu diametrul exterior de 1,0—1,5 mm sau ace subțiri cu diametrul sub 0,8 mm.

Puncția cu ac gros are avantajul că recoltează un material bogat sub forma unui fragment tisular, care reprezintă în fond o microbiopsie, dar are riscul diseminării tumorale pe traiectul puncției sau la distanță, motiv pentru care în ultimii ani se preferă puncția cu ac subțire, care permite recoltarea unui material suficient de bogat, riscurile diseminării fiind minime.

Metoda este mai frecvent utilizată, cu rezultate bune, în diagnosticul tumorilor mamare, al limfadenopatiilor și al exsudatelor seroase.

5.1.4.

Interpretarea frotiurilor citologice

5.1.4.1.

Criteriile citomorfologice de apreciere a malignității

Pînă în prezent nu au putut fi puse în evidență anumite caracteristici morfologice specifice celulei canceroase, deși au fost întreprinse în acest scop numeroase cercetări, utilizîndu-se metode citologice speciale ca: citologia în contrast de fază, citologia fluorescentă, citochimia, microscopia electronică etc.

Cu toate acestea, identificarea celulelor maligne în frotiuri este posibilă pe baza prezenței unui ansamblu de caractere morfologice vizibile la microscopul optic, care se referă la: aspectul general al celulei canceroase, modificările nucleare și modificările citoplasmei.

Aspectul general al celulei canceroase se caracterizează prin creșterea volumului celular, variații mari de formă și volum și prezența modificărilor degenerative.

Modificările nucleare sînt cele mai importante pentru aprecierea malignității celulare și constau în creșterea disproporționată a volumului nuclear cu

inversarea raportului nucleu-citoplasmatic, hiperchromazie datorită sintezei crescute de ADN, distribuirea inegală a cromatinei, care conferă nucleului un aspect neregulat, prezența nucleilor „liberi” lipsiți de citoplasmă, mitozele anormale, mărirea numărului și dimensiunilor nucleolilor.

Modificările citoplasmei constau în bazofilie datorită sintezei crescute de ARN, fragilitate marcată, limite celulare nedefinite, proprietatea de fagie.

În sfârșit, prezența placardelor de celule cu variații de formă și mărime și atipii nucleare este un alt criteriu semnificativ pentru malignitate. Dealtfel, după cum arată Koss (1968), diagnosticul citologic fiind mult mai dificil decât cel histologic, trebuie să se bazeze mai mult pe o sinteză a modificărilor observate, decât pe modificările celulelor individuale.

Aprecierea corectă a modificărilor celulare nu este posibilă fără o tehnică ireproșabilă de recoltare, fixare și colorare pentru evitarea oricărui artefact ce poate preta la erori de diagnostic. În general pentru frotiurile din secreții se utilizează metoda de colorație Papanicolau, iar pentru frotiurile din produse de puncție metoda May-Grünwald-Giemsa. De obicei, fiecare cercetător obține cele mai bune rezultate cu metoda cu care s-a familiarizat. La noi, în țară se utilizează cu rezultate bune colorația May Grünwald-Giemsa care este ieftină, ușor de executat și dă o colorație nucleară foarte bună.

Tehnicile citologice speciale ca microscopia în contrast de fază și microscopia fluorescentă, pot fi utilizate numai ca metode complementare în scop de cercetare sau pentru efectuarea unui triaj mai rapid al frotiurilor. Ele nu înlocuiesc însă examenul citologic clasic la microscopul optic.

5.1.4.2.

Clasificarea Papanicolau

Pentru raportarea rezultatelor citologice se utilizează în mod curent clasificarea Papanicolau, care împarte frotiurile citologice în 5 clase sau tipuri după cum urmează:

- tipul I — celule epiteliale de aspect normal;
- tipul II — celule epiteliale cu modificări de tip inflamator și elemente celulare inflamatorii (polimorfonucleare, limfocite, histiocite);
- tipul III — celule epiteliale anormale suspecte, dar fără caractere suficiente de malignitate;
- tipul IV — celule tumorale maligne în număr redus și
- tipul V — numeroase celule tumorale maligne.

Spre deosebire de examenul histopatologic care oferă un diagnostic de certitudine, citodiagnosticul nu permite decât stabilirea unei suspiciuni, care trebuie verificată totdeauna prin biopsie înainte de adoptarea unor măsuri terapeutice radicale.

5.2.

Diagnosticul citologic în principalele localizări ale cancerului

În cele ce urmează vom trece în revistă principalele forme și localizări ale tumorilor maligne care pot beneficia de metode citologice de diagnostic și la care practica și experiența acumulată până în prezent a demonstrat pe deplin valoarea lor.

Cancerul colului uterin

În cancerul colului uterin, examenul citologic exfoliativ și-a demonstrat pe deplin valoarea atât ca metodă de diagnostic, cât mai ales ca metodă de depistare, impunându-se prin acuratețe ridicată, simplitate și eficiență.

Din diferitele tehnici de recoltare a secreției vaginale, se folosește în prezent cu rezultate bune metoda gratajului cervical Ayre cu ajutorul unei spatule de lemn sau de plastic sau a unui tampon de burete, care prelevează un singur frotiu din materialul „raclat” de pe suprafața exocolului, ca și din cel obținut din zona joncțională scuamo-cilindrică.

În ceea ce privește tehnicile de autorecoltare preconizate de unii autori (H. Davis, 1962; Chiricuță-Munteanu, 1968), acestea trebuie să constituie doar mijloace auxiliare aplicabile la grupe izolate de populație; în anumite condiții speciale, tehnica clasică rămâne cea a recoltării frotiului de către medic sau un personal sanitar mediu special antrenat.

Potrivit clasificării lui Papanicolau, celularitatea frotiului citologic vaginal se poate încadra în cele 5 tipuri menționate anterior, în funcție de gravitatea crescândă a atipiilor celulare.

Citologia leziunilor maligne de tipul carcinomului *in situ* sau a celui invaziv (pavimentos sau glandular) se caracterizează prin prezența celulelor maligne în frotiuri. Ca și în celelalte localizări ale cancerului diagnosticul de malignitate se stabilește pe ansamblul particularităților morfologice atipice din toate celulele frotiului. Prezența celulelor cu caractere maligne justifică încadrarea acestor frotiuri în tipul IV sau V. În carcinomul *in situ* tipul celular este adesea uniform. Celulele anormale apar izolate sau în agregate laxe și sînt frecvent însoțite de celule displazice provenite din alte regiuni ale colului (fig. 5.1). În carcinomul invaziv aspectul frotiului diferă în funcție de gradul de diferențiere celulară. Carcinoamele pavimentoase cheratinizante se caracterizează printr-un polimorfism celular: celule alungite, caudate, caracteristice (fig. 5.2), adesea cu modificări degenerative. În formele nediferențiate celulele sînt relativ mici și uniforme, cu raport nucleo-citoplasmatic crescut. O carac-

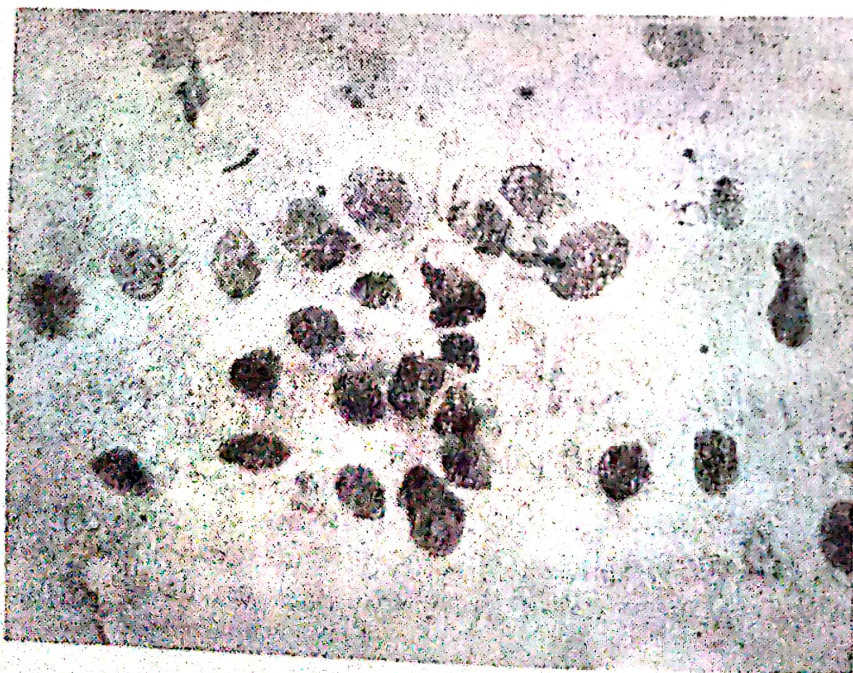
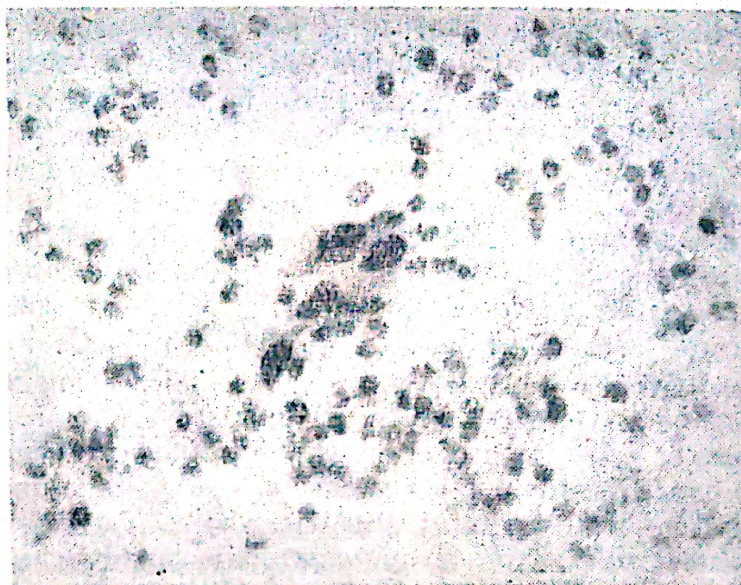


Fig. 5.1. — Frotiu vaginal. Carcinom *in situ*. Placarde de celule tumorale atipice asociate cu celule discariotice. Col. May Grünwald-Giemsa, Zeiss X 200.

Fig. 5.2. — Frotiu vaginal. Carcinom invaziv spinocelular. Placard de celule tumorale alungite. Numeroase polimorfonucleare și hematii formează fondul tumoral caracteristic. Col. May Grünwald-Giemsa, Zeiss X 200.



teristică a formelor invazive este prezența „diatezei tumorale” (reprezentată prin hematii, polimorfonucleare, filamente de fibrină și detritusuri necrotice), care de obicei lipsește în carcinoamele *in situ*.

În leziunile displazice frotiurile conțin un număr variabil de celule cu anomalii de maturare nucleară, dar cu citoplasma normală, denumite de Papanicolau celule „discariotice”. În general se poate spune că între gradul diferențierii celulelor discariotice din frotiu și gravitatea leziunii displazice există un raport invers proporțional: în displaziile ușoare și moderate predomină celulele „discariotice” de tip superficial sau intermediar, iar în cele agravate celulele „discariotice” de tip parabazal și bazal (fig. 5.3.). De obicei, frotiurile care conțin celule discariotice se încadrează în tipul III „suspect”, deoarece acestea se pot descuama dintr-o leziune displazică de la periferia unui cancer preinvaziv sau invaziv. Mai ales unele cancere „neexfoliative”, a căror frec-

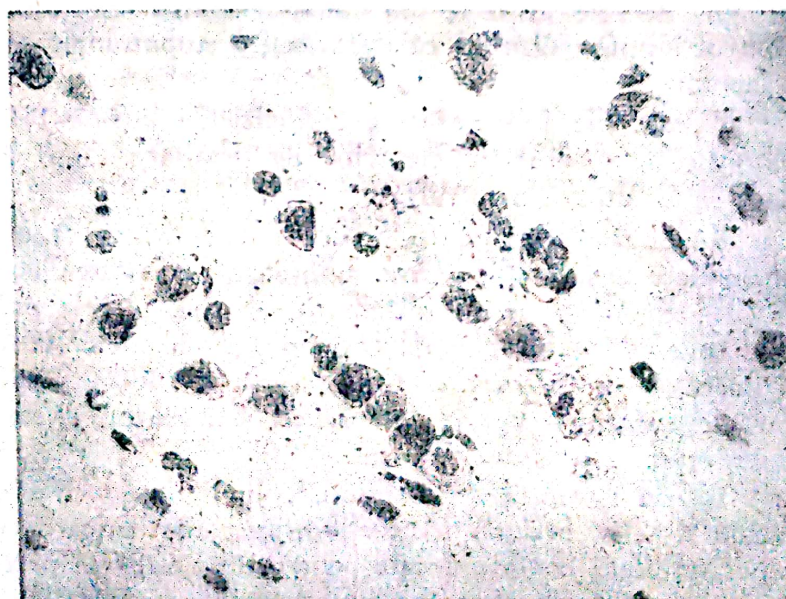


Fig. 5.3. — Frotiu vaginal. Displazie agravată. Celule discariotice de tip bazal și parabazal. Col. May Grünwald-Giemsa, Zeiss X 200.

vență variază între 6—10%, pot exfolia numai celule discariotice, pretind la erori de diagnostic fals negative.

Pentru a rezolva cel puțin într-o anumită măsură dilema frotiurilor de tip III, în Institutul Oncologic Cluj-Napoca (I. Chiricuță, Natalia Galatâr, S. Galatâr, 1968) s-a preconizat aplicarea tripsinei pe suprafața colului uterin, avînd în vedere proprietatea acestui ferment de a liza cimentul intercelular și de a intensifica descuamația celulară. Prin această tehnică se reușește ca într-o proporție de 70,40% din cazuri, pe frotiul recoltat după 24 ore să se găsească o celularitate mărită conținînd și celule net maligne, fapt care permite trecerea într-o categorie superioară (tipul III în tipul IV sau chiar V).

Ca metodă de diagnostic individual, la femeile simptomatice, cito-diagnosticul are o acuratețe mare nu numai în stabilirea malignității, ci chiar și în ceea ce privește aprecierea naturii histologice a leziunii. Prin examinarea atentă a unor frotiuri bine executate, un citolog experimentat poate să facă diagnosticul diferențial dintre displazie, CIE și carcinomul invaziv. Raportul dintre celulele discariotice și cele canceroase poate servi ca un indiciu asupra gravității procesului (Koss, 1968): în CIE predomină celulele discariotice, iar în cancerul invaziv celulele cu caractere net maligne.

Pentru aprecierea gravității leziunilor intraepiteliale ale colului uterin, Richart (1966) utilizează o clasificare cantitativă a frotiurilor bazată pe proporția celulelor discariotice de tip bazal.

Evident, există aspecte de tranziție cînd este greu să se diferențieze unele leziuni al căror aspect citologic se poate suprapune, ca de exemplu displaziile atipice avansate și CIE sau CIE și cancerul invaziv. În prezent, majoritatea autorilor (Richart, 1966; Koss, 1968) sînt de acord că, atunci cînd recoltarea, prelucrarea de laborator și interpretarea sînt corecte, citologia poate să atingă un grad ridicat de acuratețe în prezumția diagnostică pînă la 98%.

Păreră noastră este că aceste noțiuni sînt probleme de avangardă ale citologiei, care se pun pentru citologi extrem de bine documentați și axați pe această problemă, avînd o experiență bogată în acest domeniu. Din punct de vedere practic, prezintă importanță în primul rînd diferențierea leziunilor benigne de cele suspecte sau maligne pentru selecționarea cazurilor ce necesită control bioptic, urmînd ca examenul histopatologic să precizeze natura exactă a leziunii.

Rezultatele fals negative oscilează în jur de 1,4% (Richart, 1964) și se datoresc în general deficiențelor de recoltare, fiind în general foarte scăzute dacă se recoltează prin raclare.

Rezultatele fals pozitive survin mai ales în cazurile în care nu se cunosc unele date clinice, fapt care subliniază necesitatea colaborării dintre clinician și citolog. Astfel, unele inflamații, în special cele provocate de infestația cu trichomonas, de sarcină, de tratamentul cu unele substanțe citostatice, precum și procesele de regenerare epitelială pot să inducă modificări ale colului uterin, caracterizate prin apariția unor celule discariotice, care pretează la greșeli de interpretare a frotiului citologic.

Istoria naturală a cancerului colului uterin cu stările premergătoare, displazia și CIE, precum și accesibilitatea anatomică a colului pentru examinări repetate, oferă condiții ideale pentru depistarea sa precoce prin *screening* citologic, metodă care atinge o acuratețe ce ajunge între 90—95%.

Spre deosebire de oricare din metodele clinice sau paraclinice (de exemplu colposcopia) de diagnostic prezumtiv și de depistare în masă, examenul citologic are posibilitatea să descopere atât cancerule preclinice (stadiul 0, cancerul microinvaziv și microcancerul), ca și cele „oculte” (localizate endocervical).

În condiții ideale citologia se adresează deci stadiilor incipiente ale cancerului colului uterin, pe care le depistează în cadrul unor loturi largi, neselectionate de femei, fiind metoda — cel puțin teoretic — cu o aplicabilitate în masă practic nelimitată.

Citologia exfoliativă poate să surprindă clona de celule maligne abia constituită (cancerul intraepitelial), ca și întreaga gamă de leziuni displazice despre care azi se știe că pot să preceadă apariția cancerului (Koss, 1963; Nieburgs, 1963; Reagan, 1967).

Prin depistarea și tratarea acestora ne putem aștepta ca acțiunea de screening să se soldeze cu reducerea incidenței bolii invazive, oferind astfel și posibilitatea prevenirii cancerului, nu numai diagnosticarea lui precoce.

Dealtfel, valoarea citologiei exfoliative ca metodă de screening a cancerului colului uterin este în prezent pe deplin demonstrată de numeroase date statistice, care semnalează descoperirea unui număr impresionant de cancer în stadiul 0 cu ocazia acțiunilor prin examen citologic (Fiedler, 1968; Ryan, 1967). Aproape 60% din cazurile de CIE au fost depistate la femei cu col clinic normal.

Aplicarea pe scară largă a examenului citologic a avut ca urmare schimbarea balanței dintre cancerul invaziv și cancerul neinvaziv în cadrul cazurilor noi înregistrate într-un anumit teritoriu, iar repetarea examenului citologic la intervale optime (maximum 2 ani) duce la scăderea treptată a incidenței cancerului invaziv și totodată și a CIE. În această privință sînt elocvente rezultatele screeningului citologic din Columbia Britanică (Canada), provincie în care acțiunea de depistare are deja un trecut de 20 de ani și a realizat procentul cel mai ridicat de cuprindere a populației. Pe măsură ce acțiunea de screening a crescut în amploare, s-a constatat o scădere a incidenței cancerului de col uterin, după cum rezultă din registrul de cancer al provinciei, de la 28,40/1000 în 1955 la 8,60/1000 în 1974. De asemenea s-a constatat o scădere substanțială a ratei mortalității (Raportul Walton, 1976).

Examenul citologic a avut un merit major pentru înțelegerea actuală a patologiei cervicale prin faptul că, descoperind relativ ușor atipia celulară (discarioza), a determinat investigarea histo-patologică a epiteliului, chiar și atunci cînd clinic și chiar colposcopic colul părea absolut normal.

Examenul citologic cervico-vaginal poate să constituie o metodă simplă, puțin traumatizantă, de urmărire a evoluției proceselor lezionale de tip displazic sau a apariției recidivelor pe bontul de amputație pentru un neoplasm uterin. Apariția alături de complexul discariotic a celulelor care sugerează malignitatea ar fi expresia unei leziuni în progresiune de la stadiul de displazie marcată spre carcinom *in situ* sau carcinom invaziv.

În fine, studii numeroase au arătat de asemenea valoarea examenului citologic exfoliativ vaginal în aprecierea eficienței tratamentului iradiant (R. Graham, 1960) și diagnosticarea recidivelor după iradiere în stadiu potențial curabil (Masubuchi, 1969; Rayburn, 1980).

5.2.2.

Cancerul corpului uterin

Cito-diagnosticul exfoliativ are valoare mai redusă în ceea ce privește stabilirea unui diagnostic precoce de cancer de corp uterin, datorită faptului că apariția celulelor tumorale în secreția vaginală are loc de obicei în stadiile avansate, iar celulele descuamate prezintă adesea modificări degenerative exprimate, care fac dificilă interpretarea.

Pentru recoltarea unui material mai bogat au fost propuse diferite metode de aspirație endouterină a secreției cu ajutorul unor canule, cu care se poate obține o ameliorare a diagnosticului, dar cu dezavantajul de a fi mai greu de aplicat și mai greu acceptate de bolnave.

În funcție de metoda de prelevare, acuratețea diagnosticului cancerului corpului uterin, chiar la femeile simptomatice oscilează de la 50%—55% (cînd se examinează secreția din fundul de sac vaginal posterior) la 93% dacă se utilizează aspirația endocavitară (Dowling E., 1969).

5.2.3.

Cancerul bronho-pulmonar

Citologia exfoliativă este o metodă indispensabilă în diagnosticul cancerului bronho-pulmonar, localizare greu accesibilă mijloacelor de explorare histo-patologică, exceptînd bronhoscopia și puncția transtoracică.

Examenul citologic se poate efectua pe material provenit din expectorație, aspirație sau spălătură bronșică și amprente din fragmentele prelevate prin bronhoscopie.

În general, mai mult de o treime din cancerele pulmonare pot fi diagnosticate exclusiv prin tehnicile citologice (P. Nicolescu, 1968). Eficiența metodei este mai mare în tumorile localizate pe una din bronhiile principale, iar în cazurile localizate la periferia plămînului, deci inaccesibile examenului bronhoscopic, de multe ori diagnosticul pozitiv se poate pune numai pe material recoltat prin spălătură bronșică.

În practica curentă cel mai frecvent se utilizează examenul citologic al sputei care, conținînd un material celular bogat, permite obținerea unor rezultate deosebit de satisfăcătoare. În plus are avantajul că se recoltează cu ușurință, fără nici o neplăcere pentru bolnav, poate fi repetat ori de cîte ori este necesar și poate fi efectuat la bolnavi care nu suportă examinările bronhoscopice, sau la care acestea rămîn ineficiente.

Modul de prelucrare a materialului are un rol hotărîtor în obținerea unui diagnostic cît mai corect. Este important ca bolnavul să-și facă mai întîi toaleta cavității bucale pentru îndepărtarea resturilor alimentare, după care se recoltează materialul provenit din căile aeriene profunde printr-o expectorație care să elimine secrețiile din bronhiile cele mai mici, și nu din căile aeriene superioare sau faringe.

Pentru bolnavii fără expectorație sau cu expectorație redusă, au fost încercate diverse metode de stimulare a secreției bronșice și a reflexului de tuse, cum sînt aerosolii cu ser fiziologic (P. Nicolescu, 1968), aerosoli sau injecții intramusculare cu chemotripsină (Takahashi M. și colab. 1967; Yamada O. și colab. 1964) care ar accelera exfolierea celulelor canceroase.

Ineficacitatea examenului sputei la bolnavii suspecți de o neoplazie bronho-pulmonară, impune examenul citologic al aspiratului și spălăturii bronșice, sau în cazul tumorilor periferice al produsului de puncție.

În funcție de posibilitățile de prelucrare a materialului se pot utiliza tehnici pur citologice, prin examinarea frotiurilor din secreția recoltată prin aspirație bronșică și din fragmente prelevate prin bronhoscopie, sau cito-histologice prin includere la parafină a sputei sau produselor de recoltare bronhoscopice.

Pe frotiuri directe se pot prelucra toate produsele, inclusiv cele obținute prin puncționarea tumorii, cu condiția ca acestea să fie făcute imediat după recoltare, fixate rapid și colorate cât mai repede. Metoda are avantajul de a fi rapidă și ușor de executat, fără să necesite o dotare specială.

Frotiurile de spută oferind un material cu o celularitate extrem de variată, formată din celule epiteliale de diferite tipuri, precum și din elemente inflamatorii și reacionale, examinarea preparatelor este mai laborioasă, iar identificarea lor corectă necesită cunoștințe serioase de patologie pulmonară și o bogată experiență.

O caracteristică importantă este prezența macrofagelor alveolare, care constituie un indiciu că materialul provine din plămâni. Frotiurile care nu conțin macrofage sînt considerate necorespunzătoare și impun repetarea recoltării.

Recunoașterea celulelor tumorale este uneori extrem de dificilă din cauza necrozei tumorale și a modificărilor inflamatorii care însoțesc adesea cancerul bronho-pulmonar.

Pe lângă caracterele generale ale celulelor neoplazice, pentru cito-diagnosticul cancerului bronho-pulmonar sînt mai semnificative: cornificarea celulelor epiteliale exfoliate (fig. 5.4) și policromismul citoplasmei, hipertrofia nucleului cu creșterea raportului nucleu-citoplasmatic și anizocaria (P. Nicolescu, 1968).

Prin examinarea a 3 frotiuri din spută recoltate corect, cancerul bronho-pulmonar poate fi diagnosticat într-o proporție ridicată între 87%—90% (P. Nicolescu, 1968; L. Koss, 1968). Procentul rezultatelor pozitive crește

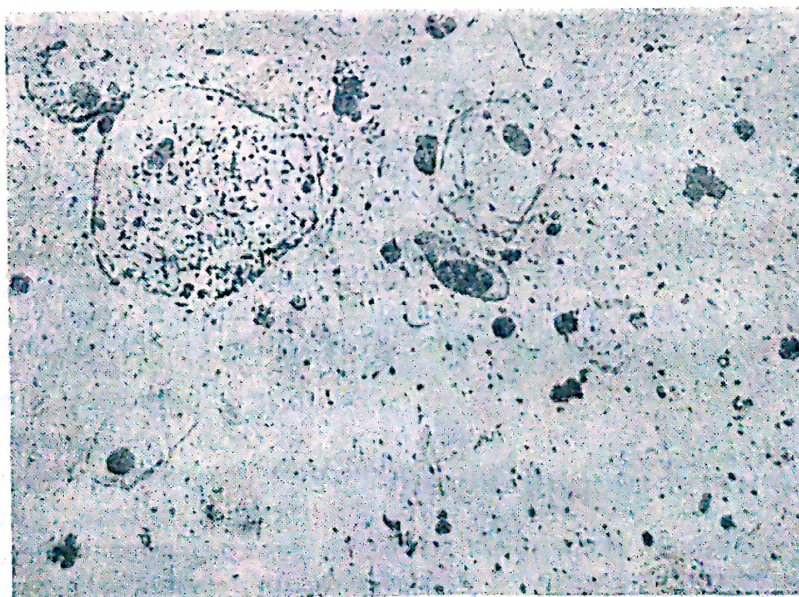


Fig. 5.4. — Frotiu din spută. Celulă tumorală cheratinizată. Col. May Grünwald-Giemsa, Zeiss X 200.

sensibil prin repetarea examenului citologic (P. Nicolăscu, 1968), precum și în recoltările făcute după bronhoscopie (St. J. Jay, 1980).

Acuratețea citodiagnosticului prin spălătură bronșică este mai scăzută, în jur de 63%, această metodă fiind indicată mai ales în unele localizări periferice, în care alte metode de prelevare sînt negative.

În recoltările endoscopice acuratețea citodiagnosticului este mai ridicată: 87% pentru materialul recoltat prin bronhoscop și 91% în recoltările prin periaj (St. J. Jay, 1980).

Ca și în cazul cancerului de col uterin, și în cazul cancerului bronho-pulmonar s-au înregistrat progrese mari în interpretarea modificărilor celulare, aprecierea tipului histologic al tumorii atingînd o acuratețe de 98% pentru carcinomul epidermoid și de 89% pentru carcinomul nediferențiat cu celule mici (J. Mouriquand, 1979).

Rezultatele fals negative pot să aibă cauze multiple: recoltarea improprie, localizarea periferică a tumorii, tumori mici, greșeli de interpretare, examinarea unui număr insuficient de preparate, tumori bronșice stenozante.

Incidența rezultatelor fals pozitive variază cu autorii între 0,3%—5%, fapt care poate să oglindească experiența diferită a citologilor. Sursa principală a erorilor de diagnostic o constituie metaplazia pavimentoasă atipică, modificare citologică nespecifică observată în condiții variate: pneumopatii cronice, după iradiere toracică, infarct, sechele cicatriceale diverse, expunere la poluanți, inclusiv uraniu etc. (Plamenac, 1979; Saccomano, 1970).

Examenul citologic al sputei permite evidențierea formelor incipiente de cancer bronșic chiar în stadiul de carcinom *in situ*, cînd nu poate fi decelat cu celelalte mijloace de diagnostic, metoda constituind un test valoros pentru depistarea cancerului bronho-pulmonar.

Preconizat în acest scop încă din 1950 de S. Farber, screeningul citologic al sputei a fost aplicat pentru prima dată abia mai tîrziu de G. Saccomano și colab. (1965) la muncitorii din minele de uraniu. Metoda fiind mai laborioasă decît screeningul citologic vaginal, n-a putut fi aplicată pînă în prezent decît pe grupe de populație selecționată cu risc crescut (muncitori din industrie, fumători, tușitori cronici etc.). Asemenea acțiuni de screening au fost întreprinse în ultimii ani și în țara noastră la muncitorii expuși la crom și la azbest (Lavinia Melinte, 1980). Rezultatele de pînă acum au arătat că screeningul citologic al sputei poate fi un test foarte fidel de vizualizare a modificărilor celulelor din tractul respirator. Prin repetarea lui se poate urmări evoluția acestor modificări, putîndu-se asigura un diagnostic precoce al cancerului bronho-pulmonar. Totodată constituie un mijloc de apreciere a efectelor nocive ale unor poluanți industriali, pe baza cărora se pot institui măsuri profilactice în colectivele expuse industrial.

În fine, există autori (Mouriquand, 1979) care susțin că, în viitor, prin definirea mai precisă a gradului de anaplazie celulară, citologia va putea furniza clinicianului informații prognostice asupra răspunsului tumorii la chimioterapie.

5.2.4.

Cancerul tubului digestiv

Primele eforturi ale tehnicilor de citodiagnostic în cancerul tubului digestiv au fost concentrate cu precădere asupra esofagului și stomacului, utilizînd spă-

lături, baloane abrazive, bureți mici și diferite tipuri de perii introduse „orbește” sau sub control fluoroscopic.

Citodiagnosticul cancerului esofagian are indicații majore în leziunile stenozante, în care biopsia nu este realizabilă tehnic. Diagnosticul este dificil în leziunile necrotice și/sau hemoragice extinse. Metoda are valoare redusă în ceea ce privește diagnosticul formelor incipiente, acestea fiind diagnosticate numai ocazional prin tehnicile abrazive.

În funcție de tehnica de recoltare acuratețea metodei variază între 73% și 96% (Vilardell, 1978).

Pentru diagnosticul citologic al cancerului gastric recoltarea sucului gastric prin spălătură cu diferite lichide de spălătură (ser fiziologic sau sol. Ringer, la care se poate adăuga chemotripsină), s-a dovedit a fi o metodă simplă, ușoară și economică, deși uneori sînt necesare spălături repetate pentru obținerea unui material satisfăcător. Cele mai bune rezultate se obțin în spălăturile cu ser fiziologic. Utilizarea chemotripsinei pentru proprietățile ei mucolitice a fost abandonată, deoarece favorizează exfolierea unui număr mare de celule cilindrice, făcînd dificilă interpretarea.

O condiție esențială pentru a se obține un material corespunzător este ca procedura să fie executată de un personal antrenat în mod special în această tehnică și care o practică în mod permanent. Metoda este laborioasă, deoarece necesită centrifugarea imediată a întregului material recoltat și efectuarea unui număr mare de frotiuri. De asemenea interpretarea corectă a modificărilor celulare necesită multă experiență. Cînd recoltarea este bună rezultatele suspecte sau pozitive în cancerul gastric ating 80,5% (J. H. Foushee, 1969).

Metodele abrazive au fost abandonate, fiind neplăcute pentru bolnav.

O dată cu dezvoltarea endoscopiei fibroscopice s-au înregistrat progrese remarcabile în diagnosticul cancerului gastric. Pentru citodiagnosticul endoscopic se utilizează spălătura directă a leziunii suspecte cu soluții izotonice sau mucolitice și abraziunea directă cu perii de nylon.

Spălătura directă dă rezultate bune mai ales în leziunile mucoase extinse, în care periajul poate fi neprecis sau în stomacurile cu pliuri îngroșate și polipi multipli.

Abraziunea endoscopică este o metodă simplă și rapidă, care permite recoltarea de pe o arie mare sub control vizual. Este metoda preferată în majoritatea centrelor de endoscopie. Materialul obținut poate fi întins direct pe lame sau introdus în ser fiziologic și centrifugat. Tehnica este relativ simplă și permite efectuarea biopsiei concomitent cu recoltarea selectivă a materialului pentru examen citologic din zonele suspecte.

Frotiurile sînt de obicei bogate în celule și, dacă se fixează imediat, conservarea celulelor este excelentă.

Celulele tumorale exfoliate din carcinoamele gastrice se prezintă izolate sau în placarde, sînt de obicei rotunde, cu citoplasmă vacuolară, nuclei excen-trici, nucleoli proeminenți și cromatină grunjoasă.

Pe măsură ce s-au ameliorat tehnicile de recoltare, care au permis aplicarea mai largă a metodelor citologice, s-au îmbogățit și criteriile morfologice de identificare cît mai corectă a celulelor tumorale izolate. Cel mai important criteriu de malignitate este prezența nucleilor voluminoși cu cromatină grosolană și membrană nucleară neregulată, îngroșată.



Acuratețea citodiagnosticului cancerului gastric în recoltările endoscopice oscilează, în funcție de metoda utilizată, între 85% (Tamura K., 1977) și 96% (Kasugai și Kobayshi, 1974).

Metoda are o acuratețe ridicată chiar și în diagnosticul formelor incipiente de cancer gastric, putînd fi utilizată cu succes la bolnavii cu suspiciune clinică, radiologică sau endoscopică, fapt demonstrat de cercetătorii japonezi (Yamada T., 1978).

Metodele endoscopice de recoltare a materialului sînt indiscutabil superioare recoltării prin spălătură, însă aplicarea lor este condiționată de dotarea cu aparatură corespunzătoare. Totodată recoltarea prin spălătură își menține indicațiile în leziunile gastrice multiple care nu sînt vizibile gastroscopic, precum și la bolnavii la care gastroscopia este contraindicată.

În laboratoarele experimentate citologia s-a dovedit o metodă eficientă de diagnostic al cancerului esofagian, gastric și colic, atingînd o acuratețe ridicată în jur de 90%. Totodată reprezintă o metodă complementară biopsiei endoscopice, deosebit de utilă în cazurile în care aceasta nu este realizabilă tehnic.

Metoda nu poate fi aplicată însă cu succes în laboratoarele improvizate, deoarece tehnica este laborioasă și necesită un personal experimentat.

5.2.5.

Cancerul aparatului urinar

Citologia exfoliativă s-a dovedit o metodă eficientă de diagnostic a cancerului căilor urinare, care exfoliază de obicei un număr mare de celule ce se elimină prin urină. Ea poate fi utilizată cu succes pentru depistarea cancerului vezical „in situ” prin evidențierea celulelor atipice, înainte de apariția leziunilor vizibile cistoscopic.

Pentru examinare se utilizează sedimentul urinar din a 2-a urină de dimineață, recoltată după prealabila mobilizare a bolnavului.

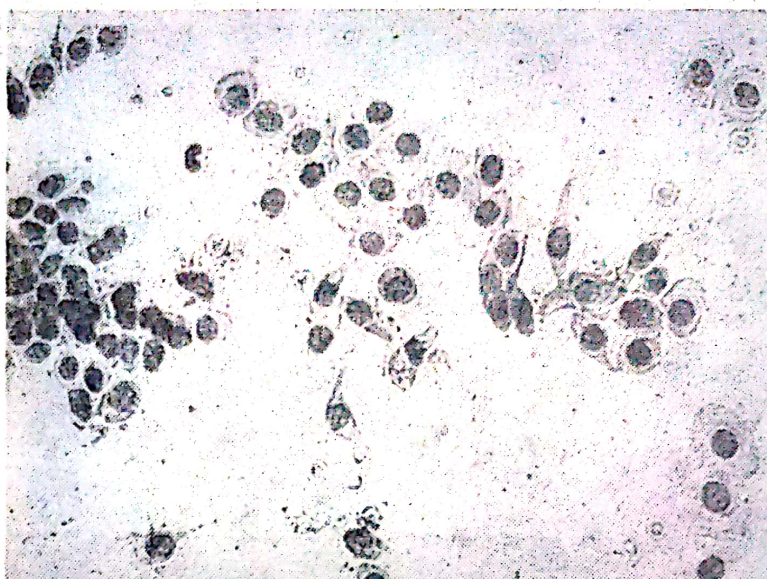
Principalele indicații ale metodei sînt:

- elucidarea diagnosticului la bolnavii cu hematurii de cauză neprecizată sau alte simptome urinare;
- depistarea recidivelor la bolnavii cu tumori ale aparatului urinar cauterizate sau operate;
- urmărirea eficienței iradierii preoperatorii a cancerului vezical;
- ca metodă de screening la muncitorii din industria chimică expuși la carcinogeni chimici din grupul aminelor aromatice, care pot să inducă dezvoltarea unui cancer vezical.

Astfel, prin aplicarea screeningului citologic urinar timp de 10 ani la un grup de muncitori expuși benzidinei, s-a constatat apariția tumorilor vezicale într-o proporție de 40% (Melinte Lavinia, 1980). Totodată examenul citologic s-a dovedit o metodă deosebit de eficientă pentru depistarea leziunilor incipiente, care au putut fi tratate, obținîndu-se o rată mare de supraviețuire.

Diagnosticul papiloamelor vezicale considerate în prezent, datorită caracterului lor recidivant, drept carcinoame de gradul I se bazează pe prezența unor placarde celulare mari asemănătoare celulelor de tranziție din straturile profunde, asociate cu discarioze (fig. 5.5). Aceste celule au nucleii ușor măriți, hiperchromi și citoplasma alungită sau cilindrică, prezentînd adesea o prelungire în formă de coadă, caracter semnificativ pentru diagnostic.

Fig. 5.5. — Sediment urinar. Carcinom vezical de gr. I. Placarde de celule discariotice cu aspect caracteristic. Col. May Grünwald-Giemsa, Zeiss X 200.



Identificarea celulelor tumorale în urină este uneori deosebit de dificilă din cauza inflamației supraadăugate, care duce la alterarea structurii celulare. Principalele caracteristici care sugerează malignitatea sînt: hipercromazia nucleară cu îngroșarea neregulată a membranei nucleare, precum și prezența nucleolilor atipici mari cu modificarea raportului nucleu-nucleol în favoarea nucleolului (Steluța Cărnaru, 1968).

Citodiagnosticul tumorilor căilor urinare are o acuratețe ridicată, între 78% și 90%, atunci cînd metoda este folosită de cadre competente și cu experiență. În condiții corecte de prelucrare și prelevare rezultatele fals negative nu depășesc 10%.

Tumorile prostatei pot fi diagnosticate prin puncție, ca și prin citologie urinară. Prima are avantajul de a furniza o proporție mare de diagnostice corecte, dar și riscul dezvoltării de noduli secundari pe traiectul puncției. Citologia exfoliativă urinară este bună pentru verificarea unei suspiciuni clinice de cancer prostatic, dar fără posibilități remarcabile în cazul neoplaziilor oculte clinic, rezultatele fals negative, chiar pentru tumorile mari, fiind mai numeroase decît la tumorile căilor urinare.

În tumorile parenchimului renal, rezultatele diagnosticului citologic sînt mediocre, avînd o acuratețe de 40—45%.

5.2.6.

Cancerul mamar

Diagnosticul citologic al afecțiunilor mamare se poate face pe material provenit din secreția mamelonară sau din puncții mamare.

Examenul citologic al secrețiilor mamelonare ne poate da informații prețioase asupra naturii leziunilor mamare și permite diagnosticarea carcinomului intraductal în stadii incipiente.

Interpretarea modificărilor celulare din secreții este adesea dificilă din cauza alterărilor degenerative celulare care modifică afinitatea tinctorială și aspectul structurii cromatinene. În lipsa celulelor cu atipii evidente, prezența fenomenelor de fagocitoză celulară, a corpusculilor psamomatoși, ca și gru-

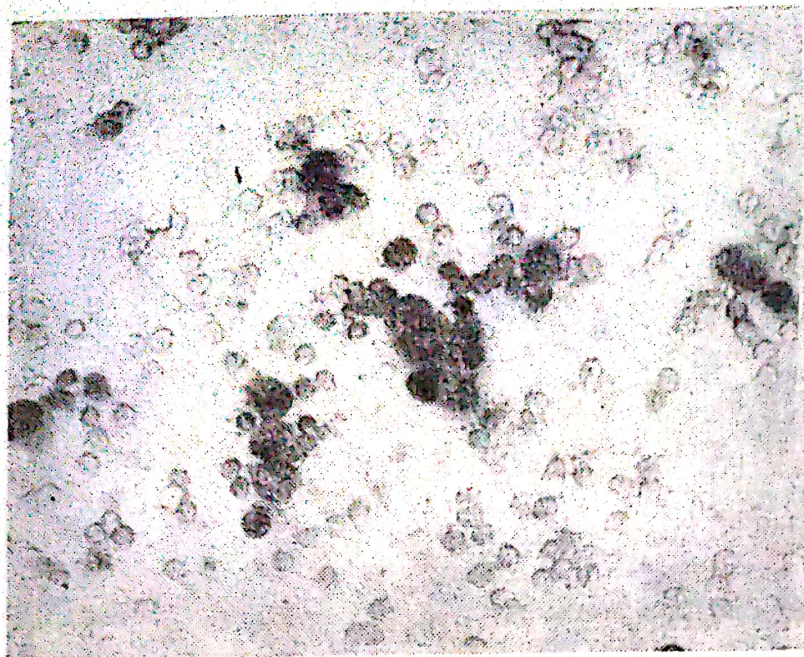


Fig. 5.6. — Puncție mamară. Carcinom mamar. Celule tumorale maligne nediferențiate. Col. May Grünwald-Giemsa, Zeiss X 200.

parea celulelor în grămezi sferice sînt caractere ce sugerează malignitatea (Zimmerman Anita, 1976).

Acuratețea diagnosticului cancerului mamar din secreția mamelonară variază între 40 și 60% (Uei Y., 1980).

Un rezultat pozitiv este o indicație obligatorie pentru intervenție chirurgicală cu examen extemporaneu.

În cazul prezenței unei tumori mamare decelabilă clinic, cu secreție mamelonară abundentă sau neconcludentă la examenul citologic, puncția mamară poate oferi date asupra naturii leziunii tumorale. Metoda este deosebit de simplă, putînd fi executată ambulator, fără pregătire prealabilă. Traumatizarea țesuturilor este minimă, iar diagnosticul poate fi pus într-un timp scurt. Diagnosticul se bazează pe caracterele morfologice celulare și dispoziția lor.

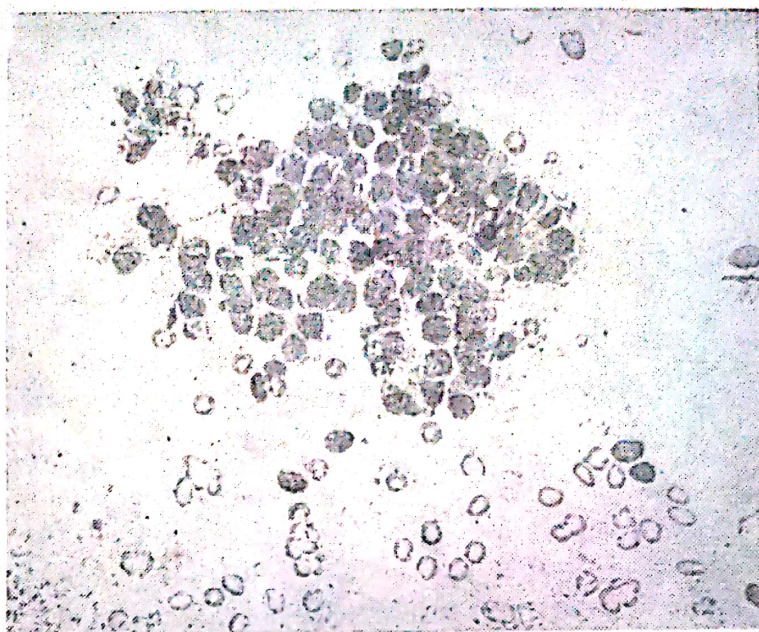
Celulele maligne conțin nuclei polimorfi cu variații de colorabilitate, raportul nucleu-citoplasmatic fiind net modificat în favoarea nucleului (fig. 5.6). Frecvent se întîlnesc celule izolate datorită adezivității celulare scăzute.

Elementele celulare din tumorile benigne sînt egale, cu o citoplasmă bine reprezentată și o dispoziție ordonată. În fibroadenoame, alături de elementele epiteliale dispuse adesea în placarde compacte, se întîlnește o cantitate variabilă de celule conjunctive (fig. 5.7). Papiloamele prezintă adesea celule grupate în ciorchini.

În procesele displazice benigne se observă frecvent numeroase histiocite spumoase, la care se pot asocia sau nu celule epiteliale ductale degenerate, precum și celule de tip apocrin. Metaplazia apocrină, poate să pună probleme de diagnostic diferențial cu o transformare malignă atunci cînd nucleii sînt măriți, iar citoplasma atipică.

Procentul de rezultate exacte este crescut, confruntările cito-histologice arătînd o concordanță de diagnostic ce variază între 90 și 95% (David Elisabeta, 1974; Franzen, 1968). Rezultatele fals pozitive oscilează între 0,1 și 1,3%, iar cele negative între 0,5 și 15,8% (L.Y.V. Bogaert, 1977). Leziunile degenerative care modifică morfologia celulară sînt principala cauză a rezultatelor fals pozitive.

Fig. 5.7. — Puncție mamară. Fibroadenom mamar. Placard de celule egale cu dispoziție ordonată. Col. May Grünwald-Giemsa, Zeiss X 200.



Rezultatele fals negative se datoresc în primul rând deficiențelor de recoltare, precum și dificultăților de interpretare a celulelor din carcinoamele bine diferențiate, în special carcinomul cu celule mici, care, având atipii nucleare reduse, se aseamănă cu celulele mici din epiteliul proliferativ al proceselor benigne.

Cercetări din ultimii ani arată că pe baza caracterelor morfologice ale celulelor tumorale se pot face aprecieri prognostice (Walgreen A., 1976). Anumite caractere ca nucleii mari cu nucleoli voluminoși, celulele tumorale izolate, nucleii denudați, lipsiți de citoplasmă și prezența materialului necrotic sugerează prezența unei tumori cu evoluție mai agresivă și deci un prognostic mai grav. Plecînd de la aceste observații unii autori au elaborat o clasificare citologică cu valoare prognostică, în 3 grupe în funcție de gradul diferențierii celulare, analoagă clasificării histo-prognostice a lui Scarff și Bloom (Mouriquand, 1979).

Prin simplitatea ei și proporția mare de rezultate exacte, puncția mamară este o metodă valoroasă pentru precizarea naturii benigne sau maligne a tumorilor mamare.

Principala deficiență a metodei o constituie dificultățile de interpretare, exactitatea rezultatelor fiind legată în mare măsură de experiența citologului.

Un examen citologic negativ nu exclude cancerul, ci înseamnă numai că pe lama examinată nu există celule maligne. Un rezultat pozitiv reprezintă o indicație obligatorie pentru intervenție chirurgicală cu examen extemporaneu.

Examenul citologic singur nu permite adoptarea unei atitudini terapeutice radicale fără confirmare histologică prealabilă.

5.2.7.

Exsudatele maligne

Exsudatele maligne ale marilor seroase (pleură, peritoneu) pot fi produse mai rar de tumori primitive (mezoteliome) și mai frecvent de metastaze carcinoamatoase sau de determinări secundare în cadrul limfoamelor maligne sau

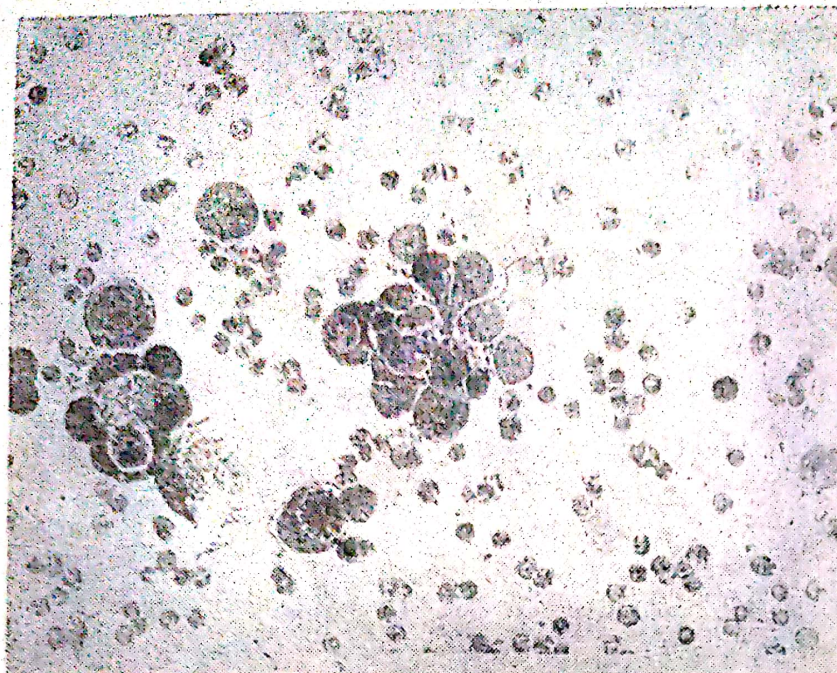


Fig. 5.8. — Frotiu din lichid ascitic. Metastază de adenocarcinom ovarian. Grup de celule tumorale cu aranjament glandular. Col. May Grünwald-Giemsa, Zeiss X 200.

leucozelor. Cel mai frecvent, apariția acestor exsudate este provocată de metastazele unui cancer ovarian, mamar sau pulmonar.

Citodiagnosticul prin biopunctură aduce o contribuție esențială la diagnosticul naturii acestor exsudate prin evidențierea celulelor maligne în frotiuri. În plus, anumite particularități ale morfologiei și dispoziției celulare pot să furnizeze relații asupra originii posibile a celulelor tumorale. Astfel, celulele metastatice dintr-un adenocarcinom își păstrează adesea aranjamentul glandular caracteristic (fig. 5.8) sau formează agregate în formă de ciorchine.

Identificarea celulelor tumorale din exsudatele maligne întâmpină uneori dificultăți, deoarece proliferând libere în lichid, acestea își modifică adesea morfologia, luând o formă rotundă „neutră”, diferită de aspectul polimorf caracteristic celulei canceroase. Pe de altă parte celulele mezoteliale reactive pot să aibă forme atipice, pretînd la erori de diagnostic.

Pentru evitarea rezultatelor fals pozitive care pot să aibă repercusiuni grave asupra bolnavului, privîndu-l de alte procedee terapeutice, se recomandă multă prudență în afirmarea malignității.

Nu toate metastazele pe seroase se exfoliază în exsudatele lor, proporția de pozitivitate pentru celule canceroase variînd în jur de 88,4% (V. T. Ionescu, 1968).

Examenul citologic al exsudatelor maligne reprezintă de asemenea o metodă de urmărire a eficienței tratamentului chimioterapic (Galatâr Natalia, 1974). De obicei modificările citologice precedă remisiunile clinice.

5.2.8.

Puncția ganglionară

Puncția ganglionară reprezintă indicația cea mai frecventă și utilă a citodiagnosticului prin biopunctură. Tehnica este simplă, nu comportă riscuri și poate fi făcută și ambulator.

Metoda are ca avantaje principale:

— posibilitatea ca într-un timp scurt să permită orientarea asupra naturii benigne sau maligne a unei adenopatii și diferențierea unei adenopatii de alte formațiuni tumorale (chisturi branhiiale, lipoame, tumori nervoase etc.), contribuind la selecționarea cazurilor care urmează să fie supuse biopsiei;

— la bolnavii cu cancer diagnosticat permite evidențierea metastazelor ganglionare;

— în cadrul bolilor de sistem permite explorarea repetată a ganglionilor din diferite regiuni, pentru obținerea de indicații asupra răspândirii bolii, a stadiilor de evoluție și a varietății aspectului citologic;

— permite investigarea unor adenopatii localizate într-o regiune în care executarea biopsiei este dificilă sau comportă riscuri din cauza abundenței de vase și nervi (de exemplu regiunea cervicală inferioară);

— permite urmărirea efectului unor mijloace terapeutice (mai ales citostatice sau iradiere) asupra ganglionului afectat;

— oferă posibilitatea efectuării unui studiu de finețe asupra morfologiei celulare, aducând contribuții prețioase la caracterizarea limfoamelor maligne.

Citologia variatelor leziuni maligne sau benigne evidențiate prin puncție ganglionară fiind extrem de complexă, recunoașterea lor necesită pe lângă o vastă și variată experiență, cunoștințe aprofundate de citologie și anatomie patologică.

Orice suspiciune citologică de malignitate necesită controlul bioptic, cele 2 metode (examenul citologic și histopatologic) completându-se reciproc.

Bibliografie

- ALECU-UNGUREANU MARIA, ZAHARIA MARIA — Citodiagnosticul cancerului genital feminin, Ed. medicală, București, 1965
- ȚĂRNARU STELUȚA — Citodiagnosticul cancerului căilor urinare și al prostatei, în: Citodiagnosticul tumorilor maligne, Ed. medicală, București, 1968, p. 107
- CHIRICUȚĂ I., GALATĂR NATALIA, GALATĂR S. — *Rev. Franc. Gynec. Obstet.*, 1968, 63, 91
- CHIRICUȚĂ I., MUNTEANU S. — *Obstet. și Gynec.*, 1968, 16, 143
- DAVID ELISABETA, GALATĂR NATALIA — The value of aspirative and exfoliative cytologic examination in diagnosis of breast tumours, in: Abstr. XI-the Intern. Cancer Congress Florence 20-26 oct. 1974, 4, 791
- DOWLING E. A., GRAVLEE L. C., HUTCHINS K. E. — *Acta Cytol. (Philad.)*, 1969, 13, 496
- DUȚU RODICA — Citodiagnosticul cancerului genital feminin, în: „Citodiagnosticul tumorilor maligne, Ed. medicală, București, 1968, p. 33
- FIDLER H. K., BOYES D. A., WORTH A. J. — *J. Obst. Gynaec. Brit. Cwolph*, 1968, 75, 392
- FOUSHEE J. H. S., KALNINS ZELMA A., DIXON F. R., GIRSH S., MOREHEAD R. P., O'BRIEN T. F., PRIBOR H., TATTORY C. — *Acta Cytol. (Philad.)*, 1969, 13, 399
- FRANZÉN S., ZAYICEK Y. — *Acta Radiol. (Stockh.)*, 1968, 7, 241
- GALATĂR NATALIA — Modificări citologice (pe frotiuri) ale celulelor tumorale din exsudatele maligne tratate cu citostatice, Texă de doctorat, I.M.F. Cluj, 1974, p. 150
- GALATĂR NATALIA — Îndreptar de citologie pentru diagnosticul precoce al cancerului colului uterin, Ed. medicală, București, 1978
- IONESCU V. T. — Citodiagnosticul tumorilor maligne, Ed. medicală, București, 1968, p. 158
- JAY S. I., WEHR K., NICHOLSON D. P., SMITH A. L. — *Acta Cytol. (Philad.)*, 1980, 24, 304
- KASUGAI T., KOBAYASHI S., KUNO N. — *Acta Cytol. (Philad.)*, 1978, 22, 327
- KOSS L. — Diagnostic cytology and its histopathological basis. Second edition, Edit. Lippincott, Philadelphia, 1968

///.

biologia cancerului

6. Celula canceroasă și țesutul malign

I. CHIRICUȚĂ • RODICA RIȘCĂ

Cuprins

- 6.1. Introducere — 205
- 6.2. Anomaliile celulare — 206
- 6.3. Modificări tisulare — 207
- 6.4. Creșterea potențialului proliferativ și autonomia proliferării — 207
- 6.5. Modificări generale ale celulelor tumorale — 208
 - 6.5.1. Modificări de membrană — 208
 - 6.5.2. Modificări antigenice — 210
 - 6.5.3. Modificări cromozomiale — 211
 - 6.5.3.1. Numărul modal de cromozomi — 211
 - 6.5.3.2. Analiza distribuției cromozomilor în grupele sistemului Denver — 211
 - 6.5.3.3. Evidențierea unor variante comune — 211
 - 6.5.4. Modificări biochimice — 213
- 6.6. Ciclul celular — 214
 - 6.6.1. Cinetica celulară — 216
- 6.7. Vascularizația tumorilor — 219
- 6.8. Heterogenitatea populațiilor celulare tumorale — 221
- 6.9. Creșterea de tip invaziv—infiltrativ — 224
 - 6.9.1. Creșterea presiunii intratissulare locale — 224
 - 6.9.2. Adezivitatea și locomoția celulelor tumorale — 225
 - 6.9.3. Elaborarea de către celulele tumorale a unor enzime litice — 226
 - 6.9.4. Factori legați de gazdă în creșterea invazivă — 227
- 6.10. Cașexia canceroasă — 228
 - 6.10.1. Generalități — 228
 - 6.10.2. Mecanismele cașexiei — 229
 - 6.10.2.1. Teoria lui Gold — 229
 - 6.10.2.2. Teoria lui Theologides — 230
 - 6.10.2.3. Teoria lui Stein — 230
 - 6.10.2.4. Teoria lui Williams — 231

6.1. Introducere

Calcululele estimative demonstrează că la un individ adult, în fiecare secundă se divid cel puțin 4 milioane de celule, 350 bilioane pe zi și mai mult decât 10^{14} pe an. Ținând seama de faptul că oricare celulă normală angajată în ciclul de diviziune are potențialul de a deveni malignă, este ușor de înțeles că procesul de transformare malignă a celulei nu este un eveniment rar. Cu

toate acestea majoritatea oamenilor trec prin viață fără a face cancer. Sistemele de detectare și control din organism sînt capabile să împiedice celulele transformate să constituie tumori; apariția unei tumori maligne este rezultatul triumfului ei asupra mecanismelor de apărare ale organismului (Folkman, 1976).

Elementul morfologic esențial care stă la baza structurii tumorilor maligne primare și secundare este *celula canceroasă*.

Sub influența diferiților agenți cancerigeni celulele normale pot suferi transformări în sens malign și pot constitui mase celulare în proliferare activă și cu creștere invazivă, distructivă.

În patologie se cunosc două tipuri principale de tumori: benigne și maligne. Tumorile *benigne* au următoarele caracteristici morfo-biologice:

a) tumori bine diferențiate și cu structură histologică asemănătoare țesutului de origine;

b) morfologia celulelor este asemănătoare cu a celor normale;

c) activitatea mitotică este în limite normale;

d) viteza de creștere, lentă;

e) tipul de creștere este expansiv, cu zonă de demarcație netă între țesutul tumoral și normal; foarte frecvent tumorile sînt încapsulate;

f) vascularizația este slab exprimată;

g) tumorile benigne recidivează rar și nu metastazează niciodată.

Spre deosebire de tumorile benigne, *cancerile* au următoarele caracteristici:

a) sînt slab diferențiate sau nediferențiate, cu o structură histologică puțin asemănătoare cu cea a țesutului de origine;

b) morfologia celulelor este mai mult sau mai puțin „anormală”;

c) activitatea mitotică este crescută;

d) de cele mai multe ori viteza de creștere este rapidă;

e) tipul de creștere este infiltrativ, invaziv, distructiv, fără zonă de demarcație între țesutul tumoral și normal; neîncapsulate;

f) vascularizația este bine exprimată;

g) tumorile maligne recidivează și metastazează.

Deși celulele tumorale maligne iau naștere din celule normale, morfologia lor este mult modificată față de celulele de origine. Studiile de microscopie optică au permis conturarea unor caracteristici generale ale anomaliilor celulare și tisulare din tumorile maligne.

6.2.

Anomaliile celulare

a) Absența sau slaba diferențiere celulară, cunoscută ca anaplazie;

b) cromatina prezintă o afinitate crescută față de coloranți; hiperchromatism;

c) neregularitatea dimensiunii și a formelor celulare; pleiomorfism;

d) numeroase celule sînt în mitoză, ceea ce denotă activitatea proliferativă intensă; numeroase anomalii ale mitozelor;

e) inversarea raportului nucleu-citoplasmatic și nucleu-nucleolar;

f) perturbarea funcționalității celulelor.

6.3.

Modificări tisulare

Prin multiplicare, celulele canceroase vor constitui un țesut nou — țesutul canceros — format din parenchim tumoral și stromă, ale cărui caracteristici morfobiologice generale sînt următoarele:

a) alterări ale organizării și arhitecturii țesutului, determinate de dezorganizări în stratificare, precum și de pierderea polarității celulelor (orientare celulară dezordonată);

b) perturbări funcționale exprimate prin anomalii sau dispariția unor funcții, acumularea unor produși de secreție în exces etc.;

c) creșteri de tip invaziv, distructiv în țesuturile înconjurătoare;

d) metastazare la distanță.

Cercetările asupra biologiei și evoluției tumorilor maligne evidențiază trei trăsături esențiale și anume:

— proliferare celulară accelerată;

— proliferare autonomă și anarhică, teoretic nelimitată, datorită scăpării de sub controlul factorilor umorali și tisulari care dirijează multiplicarea celulară în organism;

— invazivitatea, proprietatea prin care celulele canceroase infiltrează țesuturi și organe, loco-regional sau la distanță. Aceasta reprezintă singura caracteristică patognomonică pentru malignitate și este răspunzătoare pentru evoluția invariabil fatală a cancerului.

Atributele celulare și tisulare descrise permit histo-patologului încadrarea corectă a leziunii în grupa bolilor maligne. Trebuie însă accentuat faptul că pînă la ora actuală nu s-a depistat o modificare general valabilă pentru toate celulele canceroase, care să prezinte un marker de recunoaștere a malignității. Din acest motiv, în stabilirea diagnosticului de boală canceroasă sînt necesari mai mulți parametri: clinic, radiologic, histo-patologic etc. În ultimă instanță, rolul hotărîtor în stabilirea conduitei terapeutice pentru fiecare caz în parte, îi revine examenului histo-patologic.

Primele relații asupra biologiei cancerului s-au bazat pe observații morfo-clinice. Treptat, cîmpul investigațiilor a devenit extrem de larg și include cercetări biofizice, genetice, virusologice, imunologice, radiobiologice, farmacologice etc. Deși fiecare domeniu a adus un plus de informație, totuși, „fenomenul cancer” rămîne încă o mare necunoscută.

Robbins (1974) definește transformarea malignă ca o „modificare ereditară în celule, manifestată prin: potențial proliferativ crescut, proliferare de tip autonom, modificări ale membranelor celulare, modificări antigenice, anomații de cariotip, deviații morfologice și biochimice, precum și capacitatea de a invada și metastaza”.

În continuare, vom detalia principalele caracteristici care definesc și conturează transformarea malignă.

6.4.

Creșterea potențialului proliferativ și autonomia proliferării

Potențialul proliferativ și tipul de proliferare au fost studiate *in vitro*, pe populații de fibroblaste normale și transformate, de Abercrombie și Ambrose (1961). Autorii au demonstrat că fibroblastele normale proliferază ordonat,

în monostrat, fără să se suprapună și își încetează proliferarea atunci când ajung la o anumită densitate celulară. Acest fenomen a fost denumit „inhibiție de contact a diviziunii” sau „inhibiția ciclului celular”. Fibroblastele transformate malign proliferază dezordonat și nelimitat, se suprapun unele peste altele și formează focare celulare. Densitatea de saturatie care limitează creșterea celulelor normale nu are nici un efect asupra celulelor transformate (fig. 6.1.).

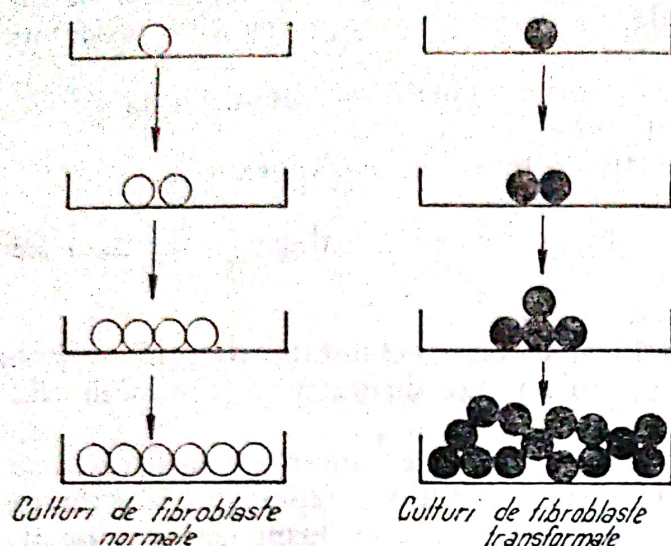


Fig. 6.1. — Aspectul în cultură al fibroblastelor normale și transformate: prezența fenomenului de inhibiție de contact la celulele normale și absența la celulele transformate (Mathé, 1976).

Proliferarea, diferențierea și funcțiile celulare dintr-un țesut organizat sînt supuse reglării și coordonării. Mecanismele de reglare se realizează la nivel *intertisular* prin intermediul sistemului nervos neuro-vegetativ și al sistemelor hormonale, iar la nivel *intratisular*, prin intermediul unor substanțe, din care un rol esențial li se atribuie chalonelor, prostaglandinelor etc.

Autonomia proliferării, în cazul tumorilor maligne, este rezultatul scăpării celulelor canceroase de sub controlul mecanismelor reglatoare, fenomen care duce la modificări esențiale în relațiile intercelulare.

6.5.

Modificări generale ale celulelor tumorale

6.5.1.

Modificări de membrană

Membranele biologice reprezintă structuri complexe ale căror componente și proprietăți generale, foarte pe scurt, pot fi sintetizate în următoarele caracteristici:

- componentele structurale principale ale membranelor sînt reprezentate de lipide, glicolipide, proteine și glicoproteine;
- majoritatea lipidelor membranale sînt aranjate într-un strat dublu;
- în condiții fiziologice, majoritatea structurilor fosfolipidice formează o matrice cu o vîscozitate echivalentă cu cea a uleiurilor minerale; o mică parte sînt integrate în complexe lipo-proteice sau în insule lipidice „solide”;
- dublul strat de lipide este asimetric și discontinuu, datorită inserării în acest loc a numeroase molecule proteice (proteine integrale). Alte proteine membranale au o poziție periferică în contact cu suprafețele polare ale stratului dublu de lipide (proteine periferice);

e) componentele structurale membranale (lipide, glicolipide, proteine și glicoproteine) sînt capabile să efectueze mișcări laterale, cu alte cuvinte, să se grupeze sau să se disperseze pe suprafață.

Datorită acestei organizări structurale, membranele biologice desfășoară activități de înaltă selectivitate și specificitate. Astfel se realizează: permeabilitatea selectivă, activitățile enzimatice, exprimarea receptorilor de suprafață pentru hormoni, lectine etc.

La rîndul lor, și relațiile intercelulare sînt mult dependente de membrane, realizîndu-se legături celulare de tipul complexelor joncționale, cooperări celulare prin intermediul glicocalixului, a sarcinilor electrice de suprafață etc.

Toate aceste proprietăți sînt esențiale atît pentru supraviețuirea celulelor individuale, cît și pentru asigurarea unor relații intercelulare echilibrate, indispensabile unui țesut organizat.

Particularitățile funcționale ale celulelor canceroase par să fie în mare măsură dependente de modificările morfologice și biochimice ale membranelor celulare. Pînă în prezent nu s-a descris o modificare unică, caracteristică tuturor celulelor transformate malign.

Studiile *in vitro* demonstrează că numeroasele varietăți histologice ale tumorilor maligne își exprimă proprietăți de suprafață diferite. Mai mult, chiar în cursul evoluției aceleiași tumori, în procesul de progresiune tumorală apar diferențe comportamentale ale celulelor canceroase, determinate de pierderea sau achiziționarea unor componente structurale de membrană, cu consecințe funcționale evidente.

Diferențele cantitative esențiale dintre structura membranelor normale și cea a celulelor transformate malign ar fi reprezentate de creșterea sarcinilor electrice negative, alterări ale complexelor joncționale intercelulare, îngroșarea și densificarea glicocalixului. Aceste modificări au la bază alterări ale echipamentului enzimatic de membrană, precum și ale structurilor lipidice și în special glico-proteice.

O mențiune specială este necesară pentru modificarea mucopolizaharidelor și anume, sinteza crescută de acid hialuronic și de mucopolizaharide sulfatate. Pe de altă parte, membranele celulelor tumorale prezintă alterări substanțiale ale numărului și repartiției receptorilor pentru hormoni, lectine etc. În plus, are loc o schimbare a configurației antigenice, prin pierderea unor antigene de histocompatibilitate și achiziționarea unor neoantigene specific tumorale (fig. 6.2.).

Date recente au demonstrat că unele diferențe biologice dintre celulele normale și tumorale s-ar datora și unei redistribuții topografice sau unor rearanjamente ale componentelor normale membranale, prin aglomerarea unor structuri în unele zone și lipsa lor totală în altele. Aceste reorganizări topografice, fără să fie însoțite de modificări biochimice decelabile, dar cu consecințe funcționale evidente, demonstrează că membranele celulare sînt structuri dinamice, în care diferitele componente se pot deplasa și constitui arhitecturi membranale noi. Aceste redistribuții topografice reprezintă modalități de răspuns prompt față de multitudinea stimulilor din mediul extracelular, precum și răspunsuri declanșate de contactul cu alte celule (Poste, 1976).

Toate aceste modificări sînt răspunzătoare, cel puțin parțial, de unele particularități funcționale ale celulelor tumorale cum ar fi: adezivitatea scăzută, pierderea inhibiției de contact, mobilitate intrinsecă crescută etc. Modi-

ficările de membrană par să nu fie limitate numai la suprafețele celulare, ci interesează și membranele organelor celulare (mitocondrii, lizozomi etc.) (Berwick, 1962; Weiss, 1980; Poste, 1976; Nicolson, 1975).

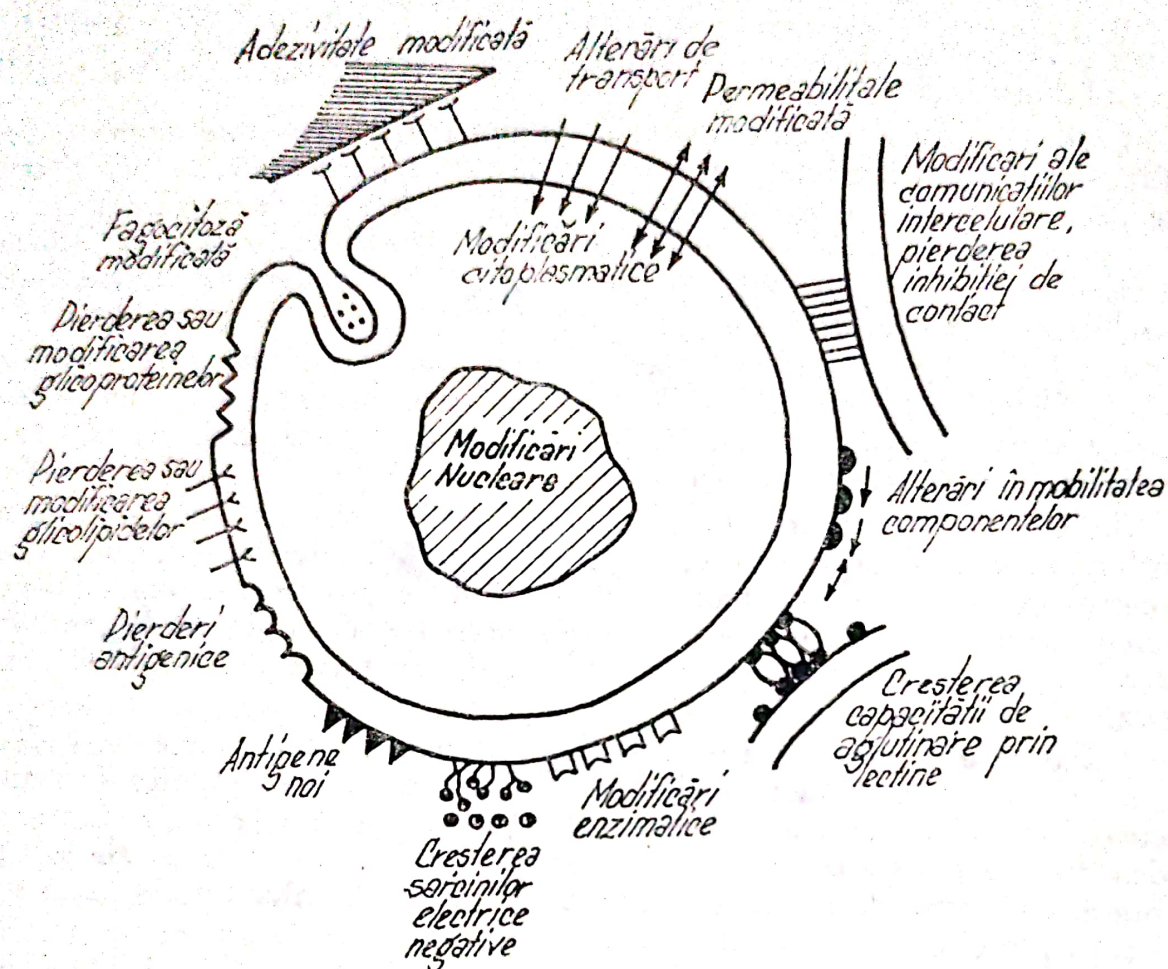


Fig. 6.2. — Schema principalelor modificări de membrană ce însoțesc transformarea malignă (Nicolson, 1975).

6.5.2.

Modificări antigenice

Reacțiile imune antitumorale se bazează pe diferențele structurale dintre celulele normale și tumorale, adică pe antigenele tumorale. Acestea au fost puse în evidență în special în tumorile experimentale induse prin virusuri sau carcinogeni chimici, dar și în cazul unor tumori animale spontane. În ultimul timp, chiar și la unele tumori umane (limfom Burkitt, cancere de colon, hepatome maligne etc.) a fost demonstrată în mod incontestabil existența antigenelor tumorale, iar studiile de imunitate antitumorală au cunoscut o dezvoltare uluitoare.

Cea mai simplă clasificare a antigenelor asociate tumorilor (AAT) le împarte în:

- antigene induse prin substanțe chimice,
- antigene virale și
- antigene onco-fetale, sau onco-embrionare (vezi capitolul imunitate).

6.5.3.

Modificări cromozomiale

Studii sistematice de citogenetică au evidențiat în tumorile maligne numeroase anomalii numerice și/sau structurale ale unuia sau mai multor cromozomi.

O întrebare de importanță fundamentală este următoarea: sînt modificările cromozomiale din celulele canceroase întîmplătoare sau se pot evidenția anumite modificări comune, definitorii pentru starea de malignitate? Răspunsul la această întrebare se poate da numai prin analiza principalilor parametri care caracterizează tumorile din punct de vedere citogenetic: 1) numărul modal de cromozomi; 2) distribuția cromozomilor în grupele sistemului Denver; 3) prezența unor variante comune (Olinici, 1978).

6.5.3.1.

Numărul modal de cromozomi

Makine și colab. (1964) au sugerat pentru prima dată că în tumorile umane ar exista un număr modal optim hiperdiploid — triploid. Cercetări sistematice au demonstrat însă că acest parametru este variabil chiar în tumori cu aceeași localizare și cu un aspect histologic similar.

6.5.3.2.

Analiza distribuției cromozomilor în grupele sistemului Denver

Această analiză are ca scop să stabilească dacă aneuploidia este însoțită sau nu de variații ale tuturor grupelor de cromozomi din sistemul Denver, sau afectează în mod preferențial anumite grupe.

Rezultatele sînt foarte diferite de la autor la autor și de la un sistem tumoral la altul.

Totuși, Atkin și Baber (1969) au constatat că în tumorile invazive există un deficit relativ al cromozomilor din grupele B, D, I, G, în timp ce în leziunile preinvazive numărul cromozomilor din aceste grupe este apropiat de valorile normale. Aceste date sugerează că distribuția cromozomilor poate fi utilizată pentru a defini, cel puțin cu un anumit grad de probabilitate, etapa de transformare malignă care a fost atinsă.

6.5.3.3.

Evidențierea unor variante comune

Termenul de „variantă comună” a fost propus de Lejeune (1963) pentru a defini o anomalie specifică, structurală sau numerică, comună pentru toate tumorile de un anumit tip.

La om, singurul exemplu bine documentat de variantă comună este reprezentat de cromozomul Philadelphia (Ph 1) din leucemia granulocitară cronică. Această anomalie constă în deleția segmentelor distale a brațelor lungi la un cromozom din perechea 22 (fig. 6.3.).

Problema existenței variantelor comune în tumori este departe de a fi rezolvată. Tehnicile moderne de bandare, indispensabile în stabilirea originii și structurii diferiților cromozomi marker, au demonstrat că și unii cromozomi

cu aspect morfologic normal sînt în realitate rezultatul unor rearanjamente structurale variate. Pare posibil ca unele anomalii cromozomiale specifice să fie mascate de numărul mare de modificări nespecifice, supraadăugate, care conferă cariotipului un aspect extrem de complex și polimorf (Olinici, 1978).

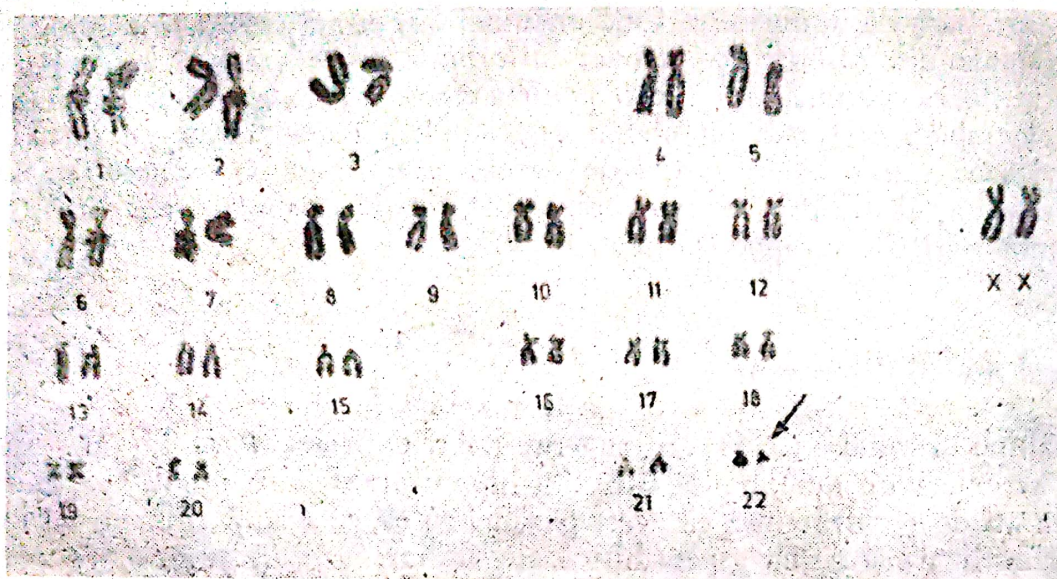


Fig. 6.3. — Cariotip la un caz de mieloleucoză cronică cu cromozom Ph 1.

În contrast cu variabilitatea observată de la o tumoră la alta, cariotipurile provenite din aceeași tumoră prezintă o omogenitate remarcabilă (Atkin, 1970). Cariotipurile sînt fie identice, fie similare, deosebindu-se numai prin variații limitate ale numărului de cromozomi. Prezența unor cromozomi markeri comuni stabilește relația clonală dintre celule și permite concluzia că tumorile rezultă din multiplicarea unor celule anormale unice (Olinici, 1978). Această ipoteză este valabilă pentru tumorile neereditare, în care probabilitatea ca două sau mai multe mutații să survină în cîteva celule adiacente este extrem de rară. Pe de altă parte, trebuie menționat faptul că persoanele predispuse la anumite forme ereditare de cancer, prezintă o susceptibilitate inițială în toate celulele, ceea ce presupune posibilă origine multicelulară a unor proliferări neoplazice.

În evoluția tumorilor, în procesul de progresiune, se desfășoară unele evenimente microevoluționare, care determină apariția unor celule variante, cu o complexitate cariotipică crescîndă. Existența unor anomalii cromozomiale în celulele tumorale parentale pare să favorizeze apariția de noi aberații, furnizîndu-se astfel fără încetare variante cromozomiale noi. Cu toate acestea, fiecare tumoră se caracterizează printr-un cariotip de bază propriu. Aceasta presupune o eliminare continuă a tipurilor celulare mai puțin eficiente și stabilizarea altora mai bine adaptate.

Procesul de evoluție clonală este de importanță majoră în înțelegerea heterogenității populațiilor celulare din tumorile maligne și are implicații importante pentru terapie. Datorită instabilității celulelor tumorale, se generează continuu variante celulare (chimiorezistente, cu antigenicitate modificată, cu potențial de invazivitate și metastazare diferit), ceea ce complică enorm posibilitățile actuale de înțelegere și influențare.

Modificări biochimice

În 1926 Warburg constată că în țesuturile canceroase crește ritmul formării acidului lactic din glucoză atât în absența oxigenului (glicoliza anaerobă), cât și în prezența lui (glicoliza aerobă). Celula canceroasă s-ar caracteriza deci printr-o glicoliză anaerobă crescută, prin prezența glicolizei aerobe și a unui nivel scăzut al respirației (Wenner, 1967). Ulterior s-a demonstrat însă că și în celulele normale cu ritm rapid de proliferare predomină glicoliza anaerobă. Efectul Warburg s-ar datora unor disfuncții mitocondriale determinate de necesitățile crescute de energie ale tuturor populațiilor în proliferare rapidă și nu ar fi specific pentru celula malignă.

Un alt aspect discutat în metabolismul glucidic al celulei canceroase, este „efectul Crabtree”. Studiile *in vitro* pe celule normale demonstrează că, dacă la mediul de cultură se adaugă glucoză, se obține o intensificare a fazei de degradare oxidativă a glucozei în detrimentul celei glicolitice. Acest fenomen este cunoscut în literatură ca efectul Pasteur. În 1929, studiind comportamentul celulelor canceroase *in vitro* la adăosul de glucoză, Crabtree constată o diminuare a fazei oxidative a glucozei și o creștere a celei glicolitice (efect Pasteur inversat). Entuziasmul față de această descoperire a fost extrem de mare și multă vreme s-a considerat că ea ar putea constitui un marker biochimic al malignității. Ulterior s-a demonstrat că „efectul Crabtree” se întâlnește și la sisteme biologice cu ritm rapid de creștere și nu constituie o particularitate exclusivă a țesuturilor neoplazice.

O problemă de real interes o constituie studiile efectuate de Chiricuță și Mustea (1965) asupra efectului Crabtree în tumorile primare și în metastazele lor. Autorii au remarcat că în timp ce în tumorile maligne primare efectul Crabtree este prezent, în metastaze acest efect lipsește, iar degradarea glucozei se face pe cale oxidativă. Aceste rezultate demonstrează că în evoluția tumorilor maligne pot să apară variante celulare cu proprietăți biochimice diferite.

O altă particularitate biochimică frecvent întâlnită în malignizare este devierea profilului izoenzimatic al celulelor tumorale. Izoenzimele reprezintă forme moleculare diferite ale aceleiași enzime, cu acțiune biochimică catalizatoare identică.

În viața fetală, în general, configurația izoenzimelor este aceeași, indiferent de organ, dar diferă de cea a țesuturilor adulte (configurație de tip fetal sau embrionar). Prezența izoenzimelor fetale în tumorile maligne sugerează un mecanism de derepresare a unor gene active numai în perioada fetală (Latner și Skillen, 1968).

O mențiune specială este necesară pentru particularitatea pe care o au tumorile maligne de a încorpora aminoacizi mai rapid decât țesuturile normale. Pe de altă parte, Babson și Winnick (citați de Chiricuță, 1974) prin experiențe *in vivo*, au evidențiat proprietatea pe care o au țesuturile maligne de a încorpora molecule întregi de proteine, fenomen neîntâlnit la țesuturile normale. Această particularitate a fost denumită „capcană de azot”.

Sistematizând datele existente asupra profilului biochimic al celulei canceroase, Robins (1974) afirmă că:

— nu există modificări biochimice care să constituie un marker pentru transformarea malignă;

- toate celulele canceroase au devieri biochimice în comparație cu celulele normale de origine;
- toate celulele tumorale nediferențiate suferă o simplificare a capacităților lor metabolice și converg astfel spre un profil comun;
- nu se poate trage o concluzie fermă dacă devierile biochimice reprezintă o cauză sau o consecință a transformării maligne.

6.6.

Ciclul celular

Activitatea proliferativă a celulelor se bazează în mod esențial pe procesele care se desfășoară în timpul ciclului celular.

Ciclul celular cuprinde perioada dintre formarea unei celule prin diviziunea celulei mamă și momentul când această celulă se va divide pentru a genera, la rândul ei, două celule fiice. Cea mai mare parte a ciclului celular este ocupată de interfază, etapă în care au loc procesele de sinteză ce duc la dublarea componentelor celulare. Mitoza este caracterizată prin procese de clivare și separare a componentelor celulare.

Cercetările asupra fenomenelor biologice și biochimice care determină proliferarea celulelor au demonstrat că atât țesuturile normale, cât și cele patologice conțin 3 tipuri diferite de populații celulare (fig. 6.4).

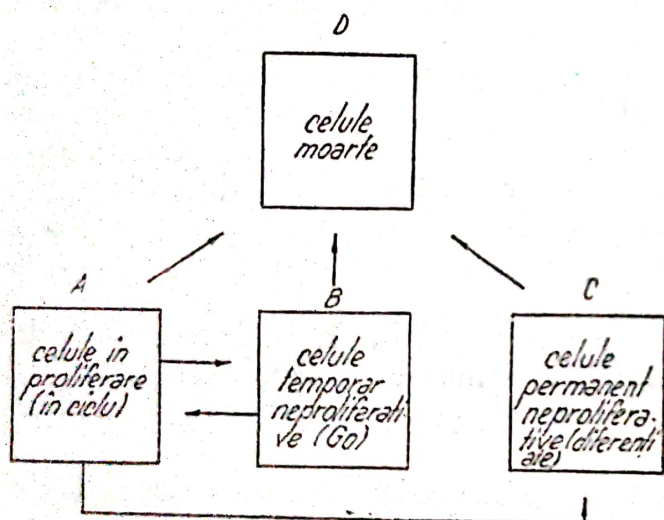


Fig. 6.4. — Compartimentele celulare în funcție de capacitatea proliferativă.

— În primul grup au fost încadrate celulele care sînt în proliferare continuă, trecînd de la o mitoză la alta într-o perioadă de timp scurtă. Aceste celule sînt în permanență în ciclu.

— O altă categorie este reprezentată de celulele care, după cîteva diviziuni, ies din ciclu și se diferențiază. Aceste celule sînt destinate să moară fără să se mai dividă. Un exemplu de celule înalt diferențiate și care nu mai proliferază, sînt granulocitele.

— Celulele din ultima categorie părăsesc temporar ciclul și rămîn în stare „dormant” pînă cînd condițiile înconjurătoare stimulează reintrarea lor în ciclul celular. Acest compartiment celular a fost denumit Go.

Țesutul care ilustrează cel mai bine comportamentul proliferativ al unei populații celulare este măduva hematopoietică. În diferite proporții însă, aceste 3 categorii de celule se găsesc în orice țesut.

În funcție de procesele care se desfășoară în timpul ciclului celular, acesta a fost împărțit în următoarele faze: G_1 , perioada cuprinsă între sfârșitul mitozei și debutul sintezei de ADN. Faza S, care se caracterizează printr-o înaltă activitate de sinteză, avînd ca rezultat dublarea cantității de ADN cromozomial.

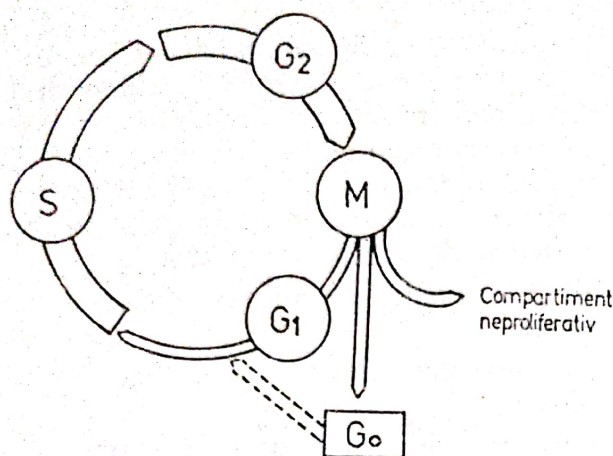


Fig. 6.5. — Fazele ciclului celular.

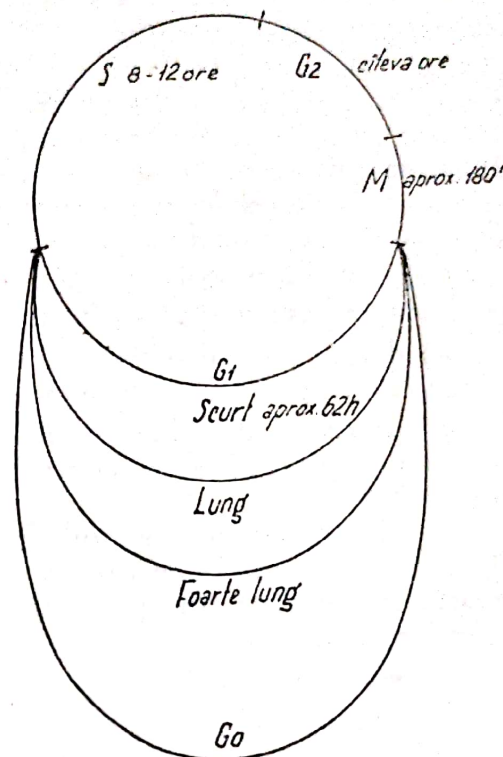


Fig. 6.6. — Durata aproximativă a fazelor ciclului celular.

Perioada dintre sfârșitul fazei S și începutul următoarei diviziuni celulare a fost denumită faza G_2 . Atît în G_1 , cît și în G_2 , sinteza ADN este suspendată. Urmează mitoză (M), care se desfășoară în etapele cunoscute: profază, metafază, anafază și telofază (fig. 6.5).

Într-un sistem biologic, ciclul celular are o durată de timp bine precizată, după cum este bine precizată și durata fiecărei faze a ciclului. La mamifere (inclusiv la om), durata medie a ciclului celular variază între 10 ore și 4 zile. Aceste variații se datoresc fazei G_1 , fază cu durată instabilă, și care influențează puternic viteza de proliferare a celulelor (Belpomme, 1979) (fig. 6.6).

Un alt aspect esențial în studiile ciclului celular este asincronismul diviziunilor celulare: într-un anumit moment, celulele dintr-o tumoare se găsesc în diferite faze ale ciclului celular. Unele sînt în G_1 , altele în S, în G_2 sau în M (fig. 6.7).

Studii comparative, efectuate pe celule normale și tumorale în ciclu, nu decelează diferențe biochimice specifice transformării maligne. Baserga (1981) afirmă însă că sînt necesare investigații suplimentare, deoarece lipsa dovezilor nu demonstrează și absența unor eventuale modificări.

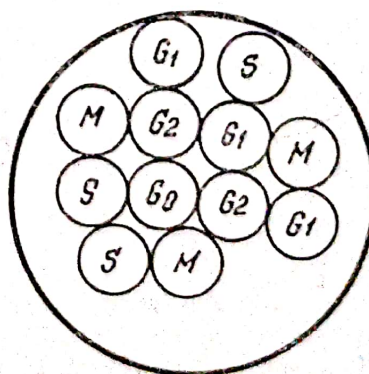


Fig. 6.7. — Asincronismul populațiilor celulare.

Cinetica celulară

Un fapt unanim acceptat în prezent este că una din diferențele esențiale dintre celulele normale și cele transformate malign o constituie capacitatea de proliferare mult mai mare a celulelor canceroase.

Timp îndelungat s-a crezut că aceste diferențe de comportament s-ar datoră unui ciclu celular mai scurt al celulelor tumorale. Ulterior s-a demonstrat că și în tumori, durata ciclului celular este similară cu cea a celulelor normale. În unele tumori s-au evidențiat chiar cicluri mult mai lente decât ciclul normal. Diferențele de comportament dintre țesutul tumoral și cel normal se bazează pe proporția de celule în continuă proliferare, mult mai mare în cazul țesuturilor maligne. Cancerele au deci un coeficient de proliferare crescut.

Criteriile de apreciere a capacității proliferative a unui țesut, normal sau patologic, se bazează pe următorii parametri:

- durata ciclului celular (T_c) (cu cât este mai scurtă perioada dintre două mitoze cu atât proliferarea este mai rapidă);
- procentul de celule în ciclu (CP) sau coeficientul de proliferare;
- rata pierderilor celulare prin moarte sau migrare spre alte țesuturi (Baserger, 1981).

Dacă P reprezintă numărul de celule în ciclu; Q_1 , numărul de celule în G_0 , Q_2 numărul de celule pe cale de degenerescență, iar Q_3 , numărul de celule moarte sau migrate (fig. 6.8), atunci coeficientul de proliferare (CP) se poate defini prin raportul:

$$CP = \frac{P}{P + Q_1 + Q_2 + Q_3}$$

Cunoscînd aceste date, se poate calcula timpul de dublare (TD) a tumorilor (timpul necesar pentru ca o tumoare să-și dubleze numărul de celule).

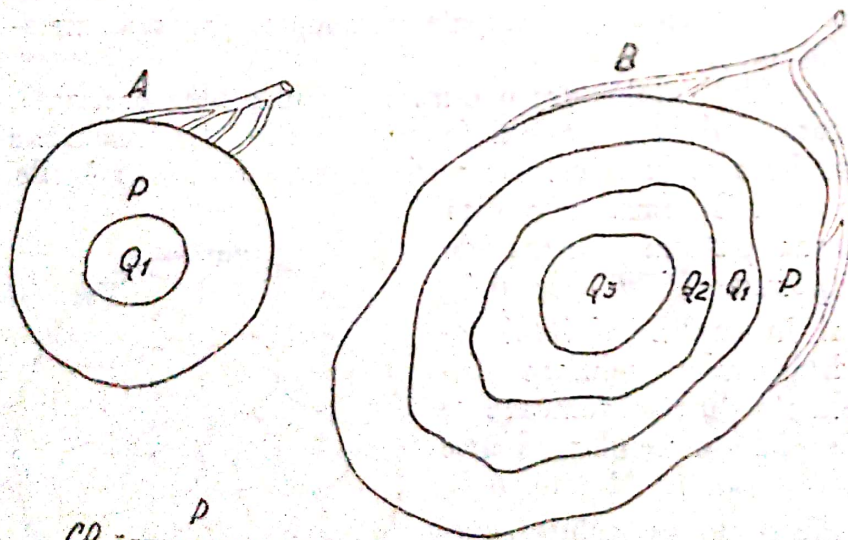


Fig. 6.8. — Compartimentele celulare în tumorile solide (Belpomme, 1979).

A — tumoare de dimensiuni mici; B — tumoare de dimensiuni mari; P — celule în ciclu; Q_1 — celule în G_0 ; Q_2 — celule pe cale de degenerare; Q_3 — necroză

$$CP = \frac{P}{P + Q_1 + Q_2 + Q_3}$$

TD potențial se referă la tumori de dimensiuni extrem de mici, în care toate celulele sînt în ciclu. Cînd intervin pierderile celulare și repausul proliferativ, creșterea tumorilor se exprimă în TD real.

Pornind de la parametrii menționați anterior (durata ciclului celular, coeficientul de proliferare și pierderile celulare), se poate estima creșterea unei mase tumorale pentru fiecare interval de timp.

Într-o populație celulară în care fiecare celulă se divide la intervale regulate de timp, numărul de celule se mărește printr-o creștere de tip exponențial (logaritmică). Dacă nu are loc nici o pierdere de celule, populația celulară se dublează la fiecare interval de timp echivalent sau aproape echivalent timpului mediu al ciclului celular. Acest tip de creștere caracterizează țesuturile tumorale în fazele timpurii de dezvoltare. În evoluția tumorilor intervin însă pier-

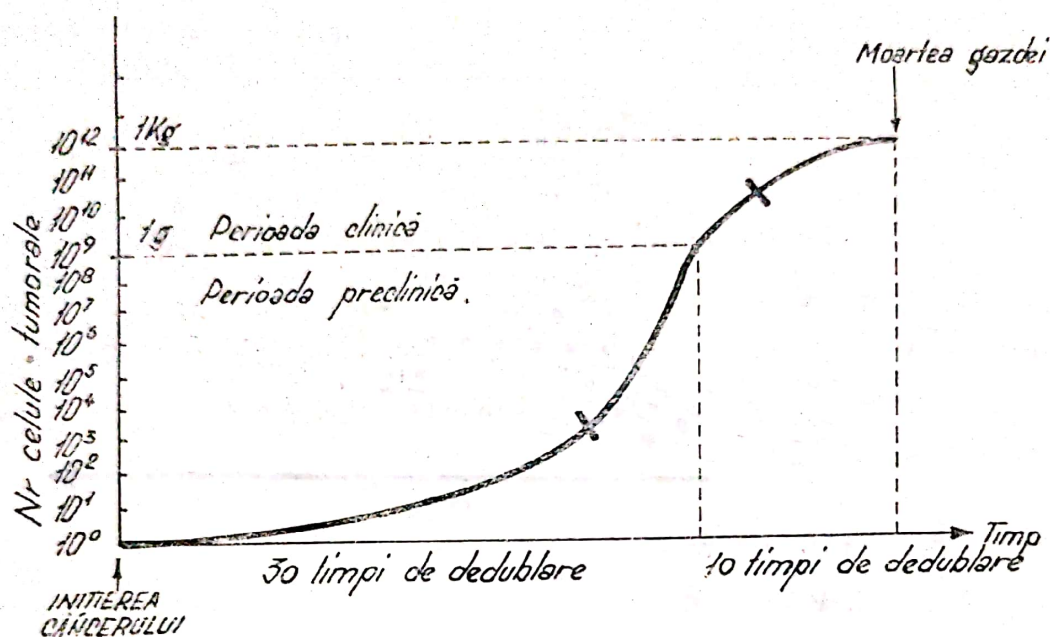


Fig. 6.9. — Curba de creștere a tumorilor solide (Belpomme, 1979).

deri celulare prin moarte sau migrare spre alte țesuturi, care vor determina încetiniri ale ritmului de proliferare și vor da curbe de creștere de tip gompertzian (Mathé, 1976). Cu alte cuvinte, după o perioadă de timp de creștere exponențială, ce corespunde în general fazelor preclinice ale tumorilor maligne, ritmul se încetinește, iar curba descrie un platou ce tinde spre o asimptotă (Belpomme, 1979) (fig. 6.9).

Creșterea spontană a unei tumori are loc de-a lungul unei perioade de timp cuprinsă între inițierea primei sau primelor celule canceroase și moartea gazdei.

În general se admite că o tumoră nu poate fi decelată clinic decât dacă numărul de celule canceroase este superior sau egal cu 10^9 (1 g de tumoare). Peste 10^{12} celule tumorale (1 kg de tumoare), boala este iremediabil mortală.

Aceste date permit stabilirea a două perioade distincte în istoria naturală a unui cancer;

- o perioadă infraclinică — de la inițiere și până la un număr de 10^9 celule tumorale;

- o fază perceptibilă clinic, din momentul diagnosticului până la moarte și care trece de la 10^9 celule tumorale până la 10^{12} (Mathé, 1976; Belpomme, 1979).

Studiile de cinetică celulară efectuate prin simpla măsurare a timpului de dublare (TD) demonstrează diferența chiar în sinul aceleiași populații de ce-

lule tumorale. Procentul celulelor în proliferare diferă de la o regiune tumorală la alta. Cercetările efectuate prin marcarea celulelor cu timidină tritiată (un precursor radioactiv al ADN), precum și cele care determină capacitatea de difuziune a O_2 în țesutul tumoral, demonstrează un adevărat mozaic celular. Tumorile cresc prin zonele lor periferice, în care se concentrează celule bine oxigenate, cu înaltă capacitate de proliferare și invazie (Warren și Shubick, 1966; Goldacre și Sylven, 1962). În zonele centrale, unde condițiile de vascularizare sînt precare, se acumulează celule degradate și celule a căror activitate proliferativă este mult mai redusă (fig. 6.10) (Belpomme, 1979).

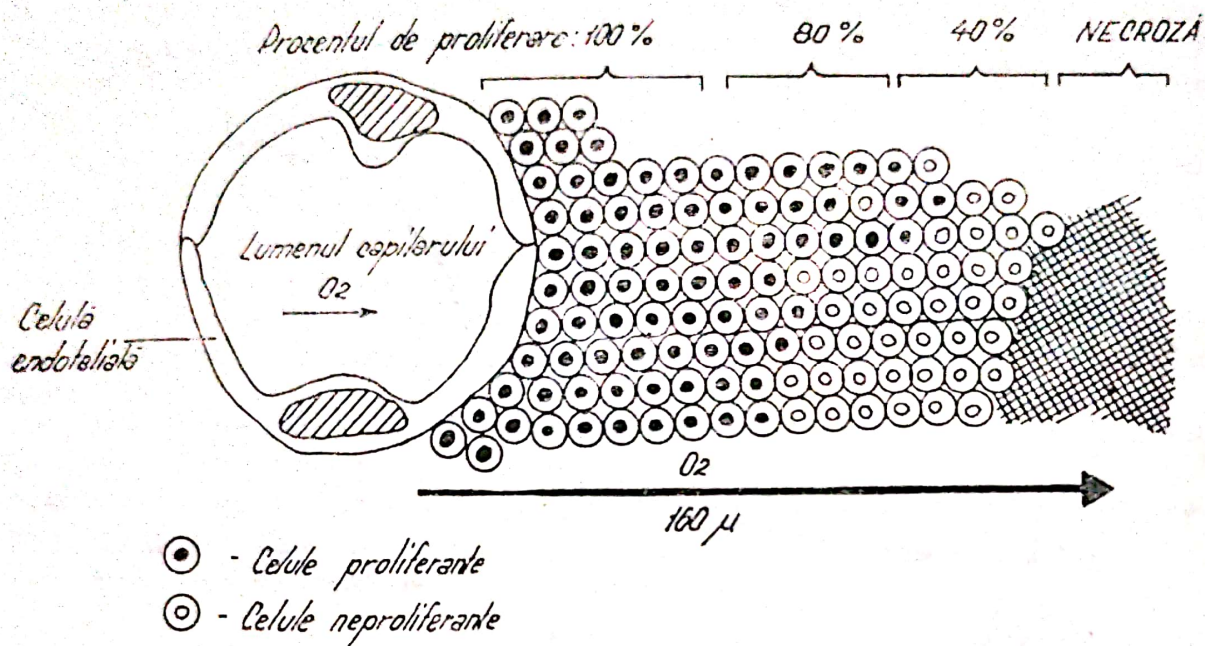


Fig. 6.10. — Variații ale capacității de proliferare în tumorile solide (Mathé, 1976).

În clinica umană posibilitățile de urmărire a ritmului de creștere a tumorilor sînt extrem de limitate. Astfel de studii au fost posibile pentru unele tumori cu localizare pulmonară. Un exemplu privilegiat este mielomul multiplu, unde cunoscînd procentul sintezei de imunoglobuline monoclonale de către plasmocite (prin determinări radioimunologice pe culturi *in vitro*), cunoscînd timpul de înjumătățire a imunoglobulinelor, precum și procentul de imunoglobuline monoclonale serice, se poate calcula masa țesutului tumoral.

În ciuda cunoștințelor incomplete, progresele realizate în studiul ciclului celular au stabilit un fapt extrem de important pentru terapie și anume că substanțele citostatice acționează numai asupra celulelor aflate în ciclu. Celulele în G_0 s-au demonstrat a fi rezistente la atacul cu citostatice. Mai mult, studiile asupra modului de acțiune a citostaticelor la nivel molecular, au demonstrat fazo-dependența acestora. S-au precizat astfel limitele și avantajele polichimioterapiei, condițiile în care apare citopenia măduvei hematoformatoare. În sfîrșit, prin utilizarea unor substanțe chimice sincronizante, s-ar putea institui o terapie dirijată, mărind astfel efectul tumoricid al substanțelor citostatice. Din nefericire, tehnicile de sincronizare sînt posibile, cel puțin pînă în prezent, numai parțial. Baserga (1981) afirmă însă că „societatea care a reușit să convingă bacteriile să producă insulina umană, va fi capabilă și să determine celulele să se comporte în organism așa cum au fost învățate să se comporte *in vitro* în

vase din material plastic". Deși bilanțul acestui domeniu de cercetare nu este încheiat, totuși, datorită rezultatelor experimentale și clinice, se va ajunge la o nouă strategie în terapia cu citostatice, care să confere condiții de maximă eficiență.

6.7.

Vascularizația tumorilor

Un alt parametru care intervine în creșterea progresivă a tumorilor este un aport continuu și suficient de sînge oxigenat. Există dovezi experimentale care demonstrează că oxigenul are capacitate de difuziune radială dinspre capilarul sangvin la o distanță maximă de aproximativ 150 microni. Celulele tumorale situate la distanță mai mare de capilar suferă procese degenerative și necroză (Tannok, 1969) (fig. 6.10), fenomen remarcat frecvent în tumorile maligne. Procesul de necroză dintr-o masă tumorală arată că ritmul de producere a stromei vasculare tumorale este mai lent decît ritmul de creștere a parenchimului tumoral.

În evoluția unei tumori solide se deosebesc 2 etape distincte: o fază avasculară și o fază vasculară (fig. 6.11).

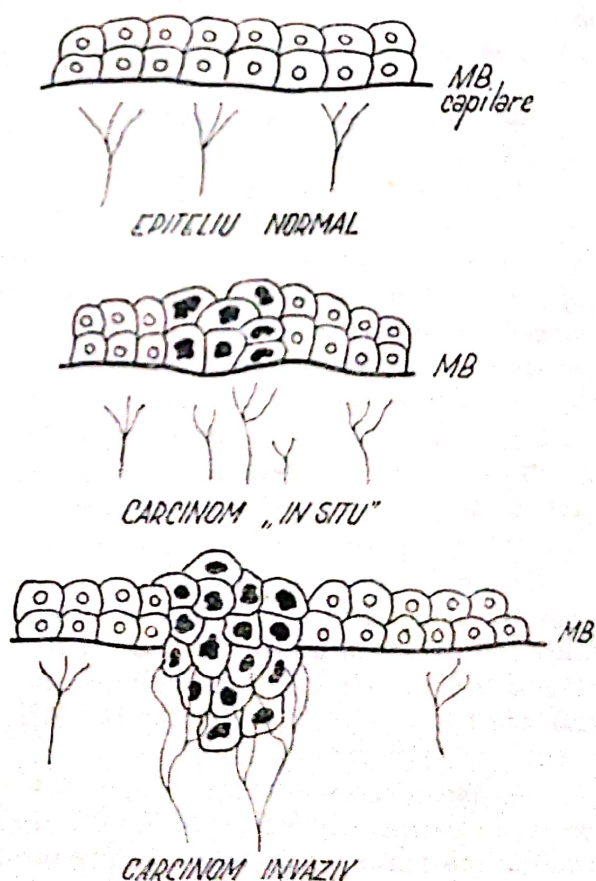


Fig. 6.11. — Reprezentarea schematică a epitelului normal, carcinomului *in situ* și a carcinomului invaziv.
Membrană bazală

Faza avasculară caracterizează leziunile tumorale *in situ*. O asemenea leziune este în mod obișnuit de câțiva mm diametru. Dacă apare în piele, vezică urinară sau col uterin, ea poate fi detectată și recunoscută. În tumorile avasculare transferul de substanțe nutritive și eliminarea cataboliților se fac prin di-

vase din material plastic". Deși bilanțul acestui domeniu de cercetare nu este încheiat, totuși, datorită rezultatelor experimentale și clinice, se va ajunge la o nouă strategie în terapia cu citostatice, care să confere condiții de maximă eficiență.

6.7.

Vascularizația tumorilor

Un alt parametru care intervine în creșterea progresivă a tumorilor este un aport continuu și suficient de sânge oxigenat. Există dovezi experimentale care demonstrează că oxigenul are capacitate de difuziune radială dinspre capilarul sangvin la o distanță maximă de aproximativ 150 microni. Celulele tumorale situate la distanță mai mare de capilar suferă procese degenerative și necroză (Tannok, 1969) (fig. 6.10), fenomen remarcat frecvent în tumorile maligne. Procesul de necroză dintr-o masă tumorală arată că ritmul de producere a stromei vasculare tumorale este mai lent decât ritmul de creștere a parenchimului tumoral.

În evoluția unei tumori solide se deosebesc 2 etape distincte: o fază avasculară și o fază vasculară (fig. 6.11).

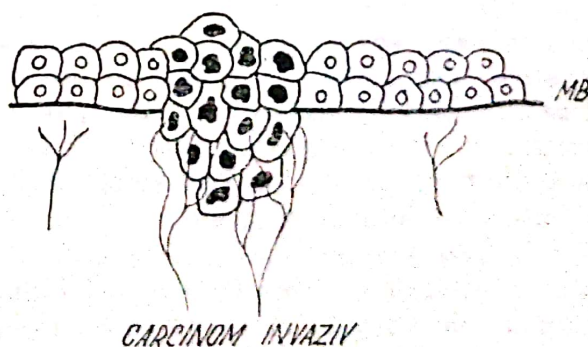
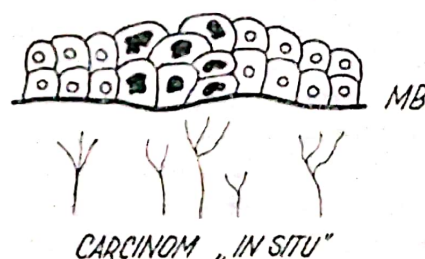
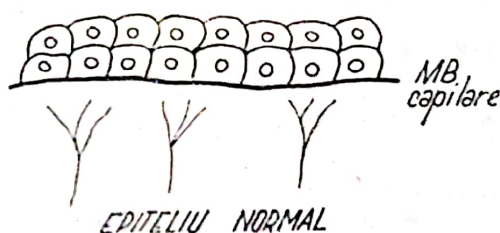


Fig. 6.11. — Reprezentarea schematică a epiteliului normal, carcinomului *in situ* și a carcinomului invaziv.
Membrană bazală

Faza avasculară caracterizează leziunile tumorale *in situ*. O asemenea leziune este în mod obișnuit de câțiva mm diametru. Dacă apare în piele, vezică urinară sau col uterin, ea poate fi detectată și recunoscută. În tumorile avasculare transferul de substanțe nutritive și eliminarea cataboliților se fac prin di-

fuziune. În aceste condiții, leziunea *in situ* nu poate să crească peste un anumit volum. Chiar și cele mai maligne tipuri tumorale pot să rămână în această stare *dormant* timp îndelungat.

În concepția lui Folkman (1971, 1974), evenimentul decisiv care convertește masa de celule tumorale aberante (dar liniștite) într-o masă cu creștere rapidă, este vascularizația. Tumoarea poate determina gazda să-i furnizeze vase sangvine. Acest proces este declanșat prin eliberarea de către celulele tumorale a unei substanțe chimice, difuzabilă, pe care Folkman a numit-o factor de angiogeneză tumorală (FAT). După cum spune și termenul, FAT are capacitatea de a stimula vasele sangvine să formeze noi capilare, care cresc spre mica colonie de celule tumorale și o invadează. Acest proces a fost demonstrat prin utilizare de FAT extras din tumori experimentale. În condiții normale, celulele endoteliale din rețeaua vasculară se reînnoiesc foarte lent. Sub influența FAT, celulele endoteliale intră prompt în activitate proliferativă. Mugurii capilarelor se alungesc tubuliform și converg spre tumoare din toate direcțiile. Tumoarea devine „roșie”, iar celulele tumorale se insinuează printre celulele endoteliale în proliferare activă. Cerința de noi capilare este continuă și intensă, iar procesul nu se oprește pînă la moartea gazdei.

Aproape toate tumorile solide (cancerle de colon, sîn, col uterin, vezică urinară, prostată, pancreas, piele) trec prin aceste 2 faze: avasculară și vasculară.

Tumoarea vascularizată comprimă, invadează și distruge țesuturile învecinate. Ea poate să se disemineze și să formeze colonii la distanță.

Se pune întrebarea: această proprietate este oare dobîndită în timpul transformării maligne?

Rezultatele experimentale ale lui Gimbrone (1976), aduc argumente în sprijinul unei particularități funcționale a celulei, dobîndită în timpul oncogenezei. Cercetările s-au efectuat pe linii de șoareci în care majoritatea femelelor dezvoltă spontan cancer mamar. S-a remarcat că țesutul mamar normal de la acești șoareci nu avea capacitate angiogenetică. La unele animale, înainte de a se constitui tumoarea malignă, apar leziuni hiperplazice cu aspect microscopic benign. Gimbrone a constatat că peste 1/3 din aceste leziuni erau stări precanceroase, capabile să inducă neovascularizare.

Rezultatele cercetărilor asupra procesului de angiogeneză dovedesc rolul crucial pe care îl joacă vascularizația în creșterea continuă a tumorilor. Folkman (1976) afirmă că „în momentul în care o celulă suferă transformări în sens malign, avantajele sale față de celulele gazdei sînt minime. Chiar dacă a reușit să dea naștere la 1 000 de celule fiice, microcolonia malignă trăiește o existență precară într-o masă de trilioane de celule normale. Posibilitatea ca această colonie de celule să ucidă într-o zi gazda este extrem de redusă. Dacă însă acest minuscule clon celular își cîștigă capacitatea de a induce neocapilare, avantajele sale cresc simțitor”.

În sistemele experimentale descrise, s-a remarcat că celulele normale adulte sau embrionare nu sînt capabile să inducă angiogeneză. Nu se cunoaște mecanismul prin care anumite procese patologice, cum ar fi inflamațiile cronice, hipersensibilitatea întîrziată, vindecarea plăgilor, stimulează vascularizația.

Înțelegîndu-se importanța neovascularizării în evoluția tumorilor, s-au depus eforturi deosebite pentru cercetarea unor eventuale căi de inhibare a acestei neovascularizări. O primă încercare a fost prepararea unui ser anti FAT. Aceasta presupune izolări și purificări de mare finețe, care pînă la ora actuală

nu s-au putut realiza. Studiile actuale sînt orientate spre cercetarea unui inhibitor general al neovascularizării.

În 1975, Brem a remarcat că marea varietate a tumorilor maligne poate fi aranjată într-o ordine ierarhică în funcție de densitatea vaselor pe care acestea le conțin. S-a demonstrat astfel că tumorile cele mai puțin vascularizate sînt condrosarcoamele. Ulterior, Slavkin (citată de Folkman, 1976) a observat că fragmente de cartilaj normal implantate pe membrană corio-alantoidiană de ouă embrionate supraviețuiesc fără să se vascularizeze. Cercetări *in vitro* și *in vivo* au demonstrat existența în cartilajul adult normal a unei substanțe care acționează ca un inhibitor al proliferării vasculare.

Acest domeniu de studiu reprezintă la ora actuală o preocupare de mare interes și cu largi implicații terapeutice de viitor.

6.8.

Heterogenitatea populațiilor celulare tumorale

Sinteza cunoștințelor actuale asupra caracteristicilor și proprietăților celulelor canceroase demonstrează evident complexitatea procesului malign.

Tumorile maligne sînt structuri heterogene, în primul rînd datorită constituenților tisulari: parenchim și stromă. Este bine cunoscut faptul că în carcinoame parenchimul este format din celulele canceroase, în timp ce stroma este țesutul conjunctiv-vascular de susținere și hrănire. La rîndul lor, constituenții celulari ai stromei sînt reprezentați printr-o mare varietate de celule normale. Unele din ele au un rol esențial în elaborarea și consolidarea scheletului conjunctiv-vascular al tumorii, altele sînt implicate larg în reacțiile de apărare împotriva neoplaziei (limfocite, plasmocite, macrofage).

Pe de altă parte, datele experimentale demonstrează evident că celulele canceroase, în evoluția lor spre constituirea unei mase tumorale, suferă unele influențe din mediul înconjurător și își modifică caracterele biologice. În sînul aceleiași populații de celule tumorale, apar fenomene de selecție și accentuare a unora din caracterele malignității, proces care are ca rezultat obținerea unor variante celulare cu comportament biologic diferit. Tumoarea malignă nu reprezintă deci o masă de celule omogene, ci reprezintă un mozaic de subpopulații celulare.

Încă în 1954, Foulds descrie acest proces ca „*progresiune neoplazică*”, iar Nowell (1976) afirmă că în ciuda faptului că cele mai multe cancere provin dintr-o singură celulă, în evoluția lor apar variante celulare datorate modificărilor genetice în clona de origine. Procesul de selecție se desfășoară în trepte, de la o generație la alta și are ca rezultat caracteristici comportamentale diferite, în diferite etape de dezvoltare. Un bun exemplu pentru labilitatea morfo-funcțională a celulelor tumorale îl reprezintă însăși transformarea unei tumori benigne bine diferențiată într-un neoplasm malign anaplastic.

Natura heterogenă a populațiilor de celule tumorale este determinată de următoarele caracteristici:

- o mare varietate în numărul și structura cromozomilor;
- diferențe în configurația antigenică a populațiilor celulare;
- caracteristici metabolice diferite;
- subpopulații cu diferite grade de radiosensibilitate;

— diferențe în tipurile de receptori de membrană (hormonali, pentru lectine etc.);

— cinetică celulară diferită;

— sensibilitate diferită la acțiunea substanțelor citostatice;

— activitate angiogenetică diferită;

— potențial de invazie și metastază diferit etc.

Posibilitatea de detectare a particularităților funcționale ale subpopulațiilor celulare sînt foarte bine ilustrate de lucrările lui Fidler (1973, 1978, 1978), Nicolson (1976). Autorii au reușit să demonstreze experimental preexistența unor variante celulare cu potențial diferit de invazie și metastază, în sînul acele-

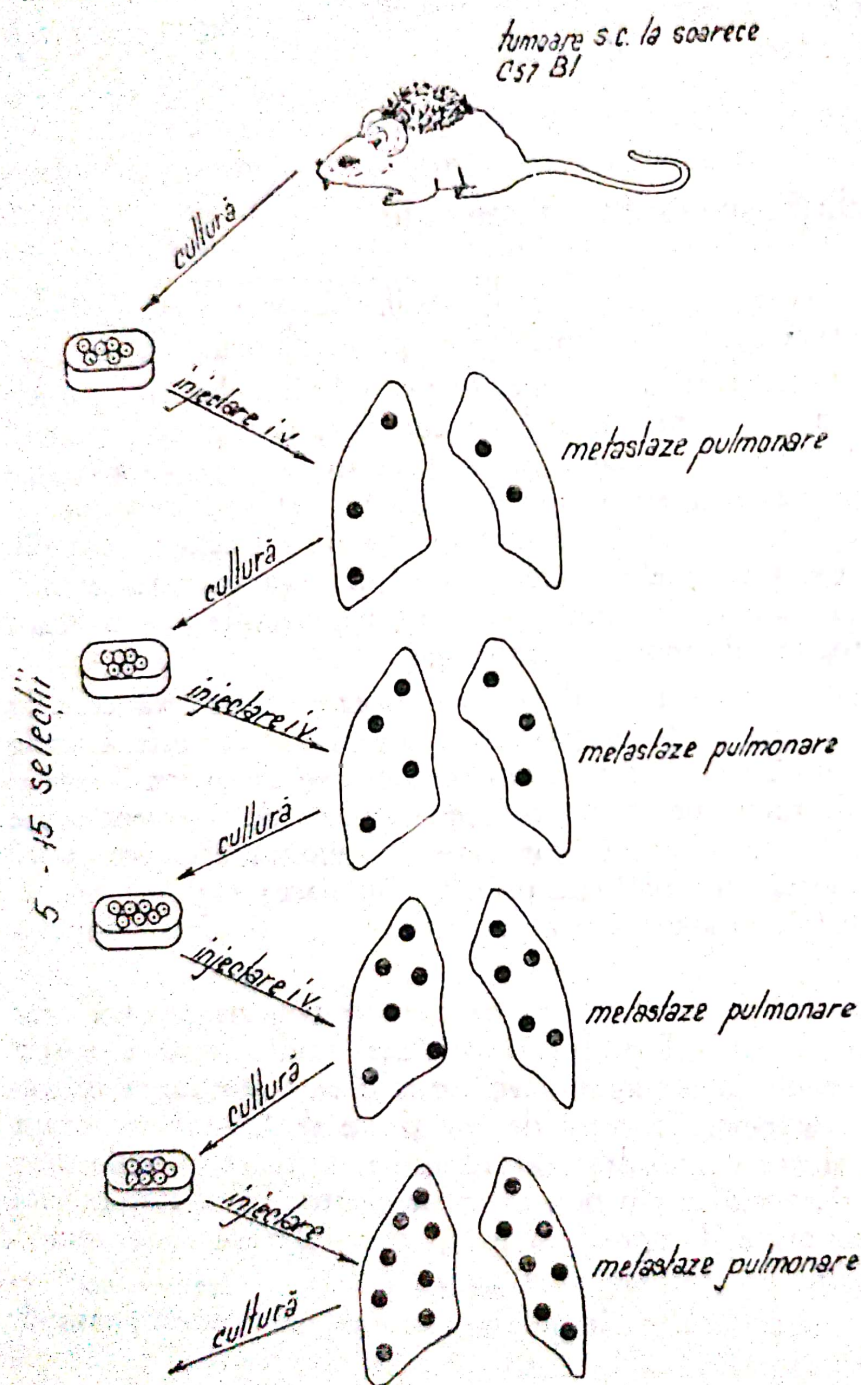


Fig. 6.12. — Model de selecționare a clonelor celulare cu potențial diferit de metastază (Fidler, 1973).

iași tumori. În acest scop s-a utilizat melanomul B16, apărut spontan în 1954 la o linie de șoareci C57 B16. Tumoarea a fost menținută prin transplantări seriate la șoareci singenici, iar ulterior adaptată și la cultivare *in vitro*.

Prin injectarea intravenoasă a celulelor tumorale s-au obținut metastaze pulmonare multifocale. Celulele din diferitele focare metastatice au fost cultivate separat *in vitro* și apoi reinjectate la animale singenice. Prin acest procedeu, repetat de aproximativ 10 ori, s-au selecționat clone celulare cu potențial foarte scăzut de metastazare și clone extrem de agresive. Între cele 2 limite extreme s-au obținut populații celulare cu potențial intermediar de metastazare (fig. 6.12).

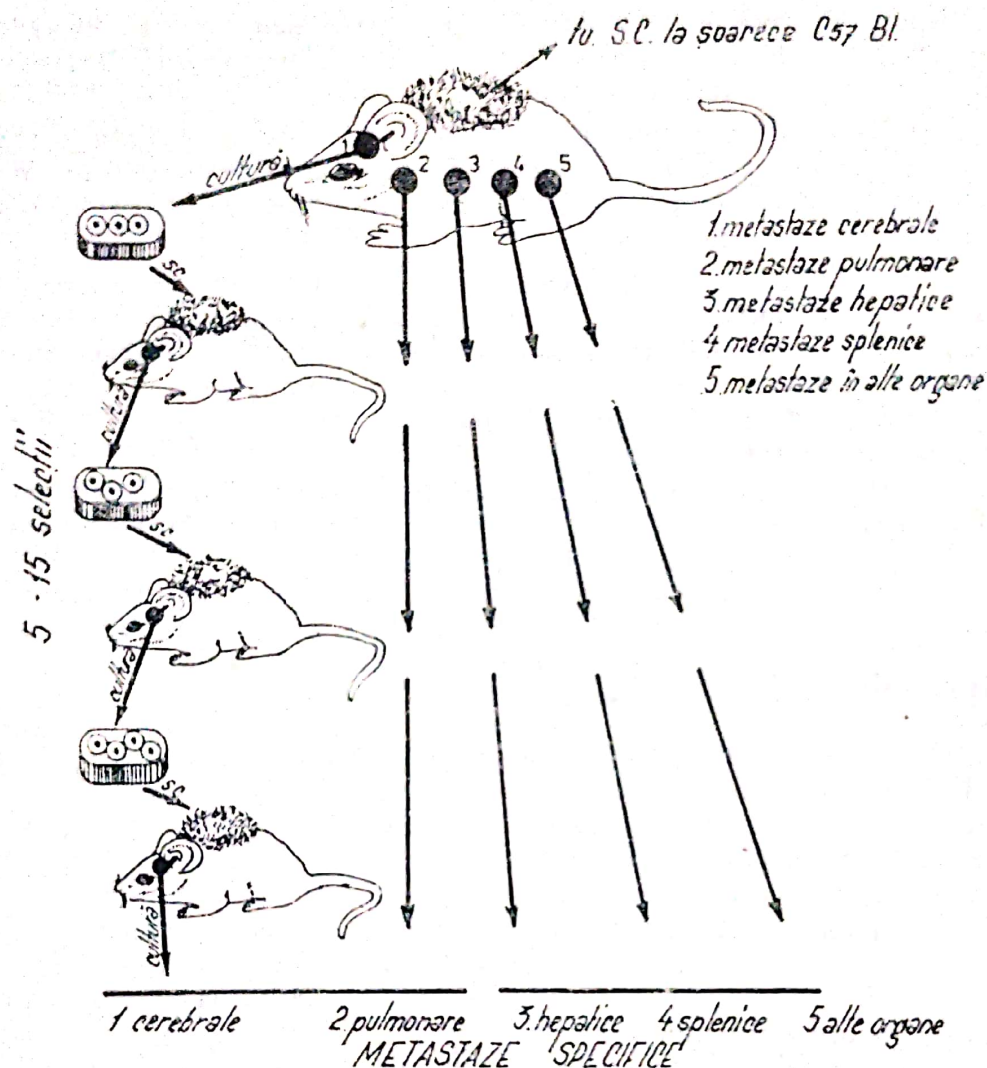


Fig. 6.13. — Model de selecționare a clonelor celulare cu potențial înalt de metastazare și cu specificitate de organ (Nicolson, 1977).

Aceste rezultate de mare actualitate aduc informații de real interes asupra patogeniei metastazelor. Cu alte cuvinte, constituirea focarelor metastatice nu este un proces întâmplător, ci unul de selecție riguroasă a unor linii celulare cu potențial înalt de metastazare, preexistente în mozaicul celular al masei tumorale primare.

Ulterior, utilizând același procedeu de clonare prin pasaje combinate, *in vivo* și *in vitro*, Nicolson (1977), a selecționat din subpopulațiile celulare cu potențial înalt de metastazare, variante cu specificitate de organ, responsabile pentru metastazele preferențiale. Aceste celule dețin unele atribute care le conferă particularitatea de a metastaza numai în anumite organe (fig. 6.13).

În lumina acestor cunoștințe se poate afirma că în evoluția tumorilor maligne celulele canceroase suferă procese de mutație și selecție și/sau influențe epigenetice, care vor genera variante celulare cu proprietăți morfo-funcționale diferite.

Bazându-se pe constatările experimentale și pe datele obținute din clinica umană, L. Foulds (1954) stabilește următoarele principii generale ale malignității:

a) fiecare focar tumoral are o evoluție independentă. Prin aceasta autorul înțelege că fiecare focar tumoral are un nivel calitativ diferit de al celui din vecinătate și un ritm diferit de creștere;

b) momentul în care tumoarea atinge un volum care o face perceptibilă clinic nu corespunde totdeauna — pentru toate tumorile de același volum — aceluiași grad de evoluție a caracterelor sale proprii. Diseminarea se poate face în orice moment al evoluției sale;

c) progresiunea este independentă de creșterea tumorii principale. Uneori aceasta rămâne staționară, în timp ce metastazele se dezvoltă sau, invers, tumoarea primară crește fără diseminări la distanță. În fine, uneori, după extirparea tumorii primare, metastazele se extind și domină tabloul clinic;

d) evoluția poate să se oprească în orice moment, după cum ea poate fi continuă sau discontinuă, în trepte;

e) evoluția populațiilor de celule canceroase se face spre heterogenitate;

f) nu este obligatoriu ca, în timpul vieții gazdei, toate focarele tumorale să atingă ultimul grad al capacității lor de evoluție.

6.9.

Creșterea de tip invaziv-infiltrativ

Infiltrarea și invadarea țesuturilor gazdei cu celule canceroase este o etapă esențială în patogeniza metastazelor.

Cercetările asupra capacității invazive a celulelor tumorale sînt extrem de greu de realizat, deoarece necesită explorări de finețe asupra structurii și funcțiilor celulare, explorări care în prezent sînt numai parțial posibile.

La ora actuală se consideră că proprietatea invazivă a celulelor canceroase se bazează cu precădere pe următoarele procese:

— proliferarea rapidă și continuă a celulelor canceroase avînd ca rezultat creșterea presiunii intratisulare locale;

— scăderea adezivității celulelor tumorale, însoțită de o creștere a motilității lor active;

— distrugerea țesuturilor gazdei prin elaborarea de către celulele tumorale a unor enzime litice, peptide toxice etc.

6.9.1.

Creșterea presiunii intratisulare locale

În concepțiile clasice, acest proces, pur mecanic, se bazează pe proliferarea rapidă a celulelor tumorale, care exercită o presiune crescută asupra țesuturilor vecine pe care le infiltrază. Procesul de infiltrare s-ar realiza prin zonele tisulare de minimă rezistență. Adept al acestei concepții, Eaves (1973) afirmă că presiunea osmotică intracelulară este mai mare în țesutul malign de-

cît în cel normal și că invazia este similară modului în care „rădăcinile plantelor forțează solul”.

Fără îndoială că presiunea mecanică joacă un rol important în invazie, dar ea nu este singura răspunzătoare pentru aceasta. În complicatul proces al cascadei metastatice se întîlnesc mai multe etape, în care celulele își demonstrează capacitatea invazivă. Astfel, ca urmare a invaziei primare, celulele tumorale pătrund în vasele limfatice și/sau sangvine și devin emboli circulanți. Celulele tumorale circulante, la rîndul lor, vor trebui să străbată pereții vasculari pentru a se localiza în alte organe. Acest proces nu poate fi explicat prin creșterea presiunii mecanice.

Pe de altă parte, presiunea mecanică „per se” nu poate explica frecvența mare în țesuturile gazdei a unor celule tumorale izolate sau în grupuri, care la examinări histologice pe secțiuni seriate demonstrează că nu au continuitate cu periferia tumorii (Străuli și Weiss, 1977).

6.9.2.

Adezivitatea și locomoția celulelor tumorale

Adezivitatea celulară este indispensabilă pentru constituirea unui țesut și pare să fie condiționată de următorii factori: existența unor punți intercelulare cu rol în acolare, prezența unui ciment intercelular, prezența unor molecule de legătură, ordonate și nu dispuse la întîmplare, cuprinzînd macromolecule, prin care celulele pot forma combinații complexe.

Celulele canceroase prezintă o adezivitate reciprocă mai slabă în comparație cu țesuturile normale. Coman (1961) definește adezivitatea prin tendința pe care o au celulele de același tip de a adera unele la altele. Celulele care și-au pierdut această capacitate de aderare cîștigă proprietatea de a adera la celule de tip histologic diferit. Adezivitatea reciprocă mai redusă facilitează separarea și eliberarea celulelor din tumoarea primară, în timp ce aderarea la țesuturile străine facilitează creșterea invazivă.

În concepția lui Weiss (1980), separarea celulară nu este pur și simplu reversul adeziunii celulare. Autorul compară în mod sugestiv acest proces cu un pansament aplicat pe o plagă ulcerată. În acest exemplu adeziunea este determinată de proprietățile de suprafață ale pansamentului și ale plăgii și dependentă de mediul lichid și/sau gazos dintre ele. Dacă pansamentul aderă de plagă, prin îndepărtare, o parte din el rămîne pe suprafața ulcerului, în timp ce o parte din țesut este îndepărtat o dată cu pansamentul. Separarea nu implică deci suprafețele de aderare ci, dimpotrivă, slăbirea forțelor de coeziune dintre două suprafețe.

În opinia lui Coman (1961), scăderea adezivității celulelor tumorale între ele s-ar datora unei alterări în concentrația calciului din mediul extracelular. Prin experiențe de mare finețe asupra proprietăților morfologice și fizico-chimice ale membranelor celulare, Weiss (1977) demonstrează că adezivitatea mai redusă a celulelor tumorale depinde de totalitatea devierilor de la normal, legate de transformarea malignă și exprimate morfo-funcțional în zona suprafețelor celulare.

Pe de altă parte, s-a demonstrat pe culturi de celule că o rată mare de proliferare favorizează desprinderea de pe suprafețele solide. Și alți factori asociați multiplicării celulare facilitează desprinderea celulară *in vitro* cum ar fi:

activitatea lizozomală, endocitoza crescută, modificarea permeabilității membranelor etc.

Estimarea numărului de celule tumorale desprinse din tumoarea primară este o problemă extrem de greu de rezolvat. Rezultatele cele mai variabile s-au obținut prin determinarea numărului de celule tumorale din sângele regional sau din vasele limfatice. Bazându-se pe calcule de cinetică celulară, Steel (1972) apreciază că aproximativ 10% din celulele tumorale în ciclu pătrund în circulație. Guillino și colab. (1977) au efectuat măsurători directe asupra numărului total de celule tumorale eliberate dintr-un carcinom mamar murin transplatat în ovar. Autorii au izolat artera și venele eferente ale ovarului și au determinat numărul de celule eliberate. Calculându-se valorile medii a 7 experimente, s-a demonstrat că 1 g de tumoare eliberează în 24 ore $3,2 \pm 1,4 \times 10^6$ celule. Rezultatele exprimate în numărul de celule găsite în sângele care drenează tumoarea au fost de $16,83 \pm 7,59$ celule/ml.

În ciuda faptului că rezultatele determinărilor efectuate pentru estimarea cantității de celule eliberate din tumoarea primară variază de la autor la autor, există o părere unanimă asupra faptului că numărul de celule desprinse crește cu dimensiunea tumorii.

Existența în organul purtător de tumoare a unor celule izolate sau în grupuri, la distanță de periferia zonei tumorale, a dus la concluzia că celulele canceroase sînt capabile să se mobilizeze.

Experiențele lui Sträuli și Weiss (1977), pe celule tumorale *in vitro*, au demonstrat că în procesul de locomoție celulară sînt necesare 3 cerințe de bază:

a) o celulă mobilă trebuie să stabilească un contact cu substratul și să adere la el;

b) avînd acest punct de sprijin, celula trebuie să fie capabilă să genereze energia necesară pentru autopropulsare;

c) celula în mișcare trebuie să rupă contactul cu substratul și să se separe de el.

Mișcarea celulară activă se bazează pe existența în citoplasmele celulare a unor proteine contractile (actomiozina). În stare fibrilară sau nefibrilară, în funcție de necesități, actomiozina ar fi răspunzătoare atît de mișcarea organelor celulare, cît și de mobilizarea celulei însăși. În sfîrșit, procesul de locomoție celulară este puternic influențat și de factorii tisulari care, prin medierea chimici și/sau constituenții stromei organului, pot dirija direcția de mișcare.

6.9.3.

Elaborarea de către celulele tumorale a unor enzime litice

În concepția a numeroși cercetători, creșterea de tip invaziv se bazează pe subpopulații celulare dotate cu o activitate enzimatică lizozomală crescută (Nicolson, 1975). Aceste celule localizate la periferia tumorii, prin hidrolazele lizozomale (mai frecvent proteaze și glicozidaze) pe care le secretă, sînt capabile să degradeze matricea țesuturilor normale și să infiltreze zonele de distrucție (Sylvén, 1976; Liotta și colab. 1977).

Deși și în acest domeniu există numeroase divergențe de opinii, datele experimentale demonstrează, cel puțin în anumite tumori, existența unei bogate activități enzimactice legată de creșterea invazivă.

Cea mai bine studiată enzimă degradativă este collagenaza. Liotta (1977; 1981) a stabilit o bună corelație între activitatea collagenolitică și infiltrația țesuturilor normale cu celule tumorale.

Creșterea invazivă este condiționată în primul rând de pătrunderea și depășirea membranelor bazale.

Studiile de microscopie electronică a membranelor bazale au evidențiat 3 zone structurale distincte:

a) lamina densă (membrana propriu-zisă), constituită în mod predominant din collagen de tip IV;

b) lamina rară sau lucidă, reprezentată de zona care separă celulele endoteliale sau epiteliale de lamina densă și este constituită predominant din glicoproteine;

c) o zonă fină și laxă de aproximativ 10 mμ, care se continuă imperceptibil cu țesutul conjunctiv subiacent (Vraco, 1974).

Collagenul de tip IV este deci constituentul principal de rezistență al membranelor bazale. În procesul de creștere invazivă, țesutul malign se lovește de numeroase bariere, reprezentate de membranele bazale. Orice tumoră malignă epitelială în creștere progresivă trebuie, în primul rând, să depășească membrana bazală a țesutului de origine. În procesul de diseminare la distanță este necesară invadarea membranelor bazale ale vaselor limfatice și/sau sanguine. La rândul lui, embolul tumoral circulant, pentru a forma focare metastatice, trebuie să depășească membrana bazală a capilarelor din organul țintă. Este evident faptul că activitatea collagenolitică a celulelor canceroase dobândește o mare importanță în evoluția tumorilor maligne.

Recent, Liotta (1981) a reușit să izoleze și să purifice din mediul de cultură a celulelor tumorale cu potențial înalt de metastazare, o protează neutră cu activitate collagenolitică specifică pentru collagenul de tip IV. Această collagenază specifică pare să joace un rol esențial în creșterea de tip invaziv și în diseminarea la distanță.

Datele experimentale subliniază de asemenea că celulele canceroase au capacitatea de a produce și elibera activatori ai plasminogenului în plasmină, răspunzătoare, la rândul ei de activitate fibrinolitică (Ossowski și colab., 1973). Alături de activitatea trombotică a celulelor tumorale, fibrino-formarea și fibrinoliza par să aibă implicații largi în invazie și metastazare și reprezintă un domeniu de cercetare de real interes.

6.9.4.

Factori legați de gazdă în creșterea invazivă

În ciuda faptului că tumorile maligne proliferază autonom, organismul gazdă, prin mecanismele sale de apărare va încerca să se opună dezvoltării și progresiunii tumorale. Regresiunile tumorale spontane sînt însă mult mai rare decît cancerul evolutiv; aceasta demonstrează că, de cele mai multe ori mecanismele de apărare sînt ineficiente.

Țesuturile normale ale gazdei, situate în vecinătatea unei tumori maligne au capacitatea de a elabora factori biochimici reacționali, asemănători cu cei care iau naștere în inflamații (Marell, 1979). La rândul său, țesutul conjunctiv poate să constituie pe de o parte o barieră în calea progresiunii, pe de altă parte un mijloc de facilitare și direcționare a locomotiei. Weiss (1967) a demonstrat experimental, *in vitro*, că celulele tumorale crescute pe coagul de plasmă se

orientează de-a lungul filamentelor de fibrină. Microșanțurile gravate pe suprafața de sticlă au avut același efect. Autorul denumeste acest fenomen „*contact guidance*” și îl consideră ca un factor care participă la invazia *in vivo* a celulelor tumorale de-a lungul fibrelor conjunctive.

Existența în tumorile maligne a unor infiltrate celulare, răspunzătoare pentru reacțiile imune din organism (limfocite, plasmocite, macrofage), relevă participarea compartimentului imun la mecanismele de apărare. Antigenicitatea slabă a tumorilor, asociată la scăderea capacităților reactive imune ale gazdei, poate contribui substanțial la evoluția aproape invariabil fatală a cancerelor.

Sintetizând datele asupra caracteristicilor esențiale ale țesutului malign, se evidențiază faptul că modificările generale datorate transformării maligne sînt atît de ordin cantitativ, cît și calitativ. Pînă la ora actuală nu s-a evidențiat un marker specific celulei canceroase; invazivitatea și metastazarea reprezentînd singurele caracteristici patognomonice pentru malignitate. Noțiunea de tumoare malignă este deci definită și conturată de totalitatea modificărilor morfo-funcționale pe care le suferă celula normală în cursul transformării.

Caracterul heterogen al populațiilor celulare din tumorile maligne, datorat variantelor celulare cu caracteristici morfo-funcționale diferite, complică enorm posibilitățile actuale de înțelegere și influențare terapeutică a cancerului.

Pe de altă parte, izolarea și caracterizarea subpopulațiilor celulare răspunzătoare pentru caracterul heterogen al celulelor canceroase dintr-o masă tumorală, oferă largi perspective de cercetare asupra diferitelor modificări răspunzătoare de transformarea și progresiunea malignă.

6.10.

Cașexia canceroasă

6.10.1

Generalități

Cașexia canceroasă este suita de modificări metabolice care afectează profund starea de nutriție a bolnavilor și constituie una din cauzele majore de deces în neoplaziile maligne.

Simptomele principale ale cașexiei canceroase sînt prezentate de: scăderea excesivă în greutate, anorexie, degradare marcată a proteinelor și lipidelor tisulare, anemie și balanță negativă de azot.

Neoplaziile pot fi cauză de deces prin mai multe căi. Tumorile benigne, în general, sînt letale numai cînd produc leziuni într-un organ vital.

Tumorile maligne, pe lîngă efectele obstructive locale (datorită ritmului rapid de creștere) se caracterizează prin capacitatea invaziv-infiltrativă. Această invazie este adesea complicată de hemoragii, ulceratii și infecții secundare. În plus, tumorile maligne au capacitatea de a metastaza în alte organe. La rîndul lor, metastazele au aceleași caractere distructive ca tumorile primare. În concluzie, procesul care începe prin cancerizarea celulei sfîrșește prin cancerizarea organismului.

Deși cauza morții la fiecare bolnav cu cancer avansat este individualizată, totuși, un mare număr de cazuri sfîrșesc în cașexie canceroasă (Shapot, 1972; Robins, 1974; Morison 1975, Williams, 1980).

De cele mai multe ori, sindromul cașexie-anorexie însoțește neoplasmul tractului gastro-intestinal, situație în care este împiedicată ingerarea sau diges-

tia alimentelor. Există totuși un mare număr de bolnavi canceroși care sucombă în cașexie, fără să fie afectat tractul gastro-intestinal, fără neoplasme avansate sau metastaze extinse și a căror masă tumorală reprezintă doar o mică fracțiune din greutatea corpului. Mai mult, cașexia poate să fie semnul revelator al unui neoplasm „ascuns”, cum ar fi cancerul de pancreas sau pulmonar (Brennen, 1977).

Observațiile anatomico-clinice demonstrează clar că gradul cașexiei nu se corelează direct cu dimensiunea tumorii, tipul histologic sau sediul anatomic al acesteia. Mai mult, interesul este îndreptat mai ales asupra sindromului cașectic, care survine în absența oricărei tumori palpabile sau vizibile. În mod cert, elucidarea mecanismelor prin care se realizează acest proces este de importanță crucială pentru conduita terapeutică.

6.10.2.

Mecanismele cașexiei

Potrivit opiniei lui Williams (1980), nu este corect să se considere cașexia ca un proces datorat necesităților nutritive excesive ale tumorii. Această afirmație se înțelege mai ușor dacă se face comparație între consecințele creșterii tumorilor maligne, cu cele ale produsului de concepție. În ambele situații există o creștere rapidă datorată furnizării de către gazdă a tuturor substanțelor nutritive necesare. Datele din literatură demonstrează că masa totală a tumorii la bolnavii de cancer în fazele terminale, rareori depășește 500 g, în timp ce media greutății fătului la naștere este de 3,5 kg. În comparație cu tumorile maligne, embrionul are un ritm de creștere mult mai rapid și totuși mama nu devine cașectică. Organismul uman deține mijloace de compensare a unor pierderi, în condiții în care suportă „o masă parazită” mult mai mare și cu ritm de creștere mult mai rapid decât cel al țesutului canceros.

În scopul descifrării mecanismelor care stau la baza procesului de cașexie s-au efectuat numeroase cercetări. Datele experimentale și clinice au permis conturarea unor mecanisme posibile; vom trece în revistă cele mai importante ipoteze:

6.10.2.1.

Teoria lui Gold (1968—1974)

Această teorie se bazează pe particularitatea metabolică pe care o au tumorile maligne de a dezvolta o rată înaltă de activitate glicolică, ce atrage după sine un consum mare de energie din partea gazdei purtătoare de tumoare.

Astfel, în tumoare glucoza se degradează prin glicoliză anaerobă până la lactat. În țesuturile gazdei, prin glucogeneză lactatul este reconvertit în glucoză. Datorită faptului că țesutul tumoral are o rată scăzută de gluconeogeneză, această resinteză se face pe seama țesuturilor gazdei, în special în ficat și rinichi. Pe măsură ce volumul tumorii crește, crește și consumul de glucoză, iar resursele gazdei (datorită eforturilor pe care le depune pentru menținerea unui nivel normal al glicemiei), sînt din ce în ce mai reduse.

Ipoteza lui Gold nu poate însă explica de ce tumori de dimensiuni extrem de mici induc uneori o cașexie exprimată (Robins, 1974; Costa, 1977). Mai mult, nu se poate considera cașexia ca dependentă de un singur parametru (glicoliza), deoarece s-a demonstrat experimental că hepatoamele Morris, de mi-

nimă deviație, cu rată glicolică foarte scăzută, sînt capabile să provoace apariția cașexiei. În plus, această teorie nu explică de ce gazda nu-și crește absorbția de substanțe nutritive care să suplinească pierderile de energie, așa cum se întîmplă la gravide (Williams, 1980).

6.10.2.2.

Teoria lui Theologides

În concepția lui Theologides (1979), tumorile maligne elaborează produși de metabolism (încă neidentificați) care activează sau inactivează alosteric diferitele enzime ale gazdei. Rezultatul acestui proces este un dezechilibru metabolic, iar gazda este sediul unor „reacții biochimice activate sau inactivate fără un scop anume”. Tumoarea în proliferare activă captează unii metaboliți esențiali, în timp ce gazda îi pierde. Pe lîngă producerea de compuși enzimatici alosterici, tumoarea elaborează peptide anorexice, care în hipotalamus semnalează sațietate. Astfel, în concepția lui Theologides cașexia este consecința haosului metabolic consumptiv, alături de un aport redus de substanțe nutritive.

Totuși, pînă la ora actuală nu s-a putut demonstra nici o modificare enzimatică alosterică, iar problema „haosului metabolic” este departe de a fi lămurită. Unele rezultate experimentale demonstrează că modificările în activitatea enzimatică a ficatului gazdei, ca răspuns la grea tumorala, nu sînt haotice. Din contră, survin modificări ale anumitor enzime, cu orientarea lor spre activități caracteristice „stării fetale” a țesutului de origine.

În ceea ce privește anorexia, dacă presupunerea lui Theologides ar fi exactă, prin blocarea activității hipotalamusului (care sub influența peptidelor anorexice dă senzația de sațietate), ar trebui să se prevină și starea de cașexie a animalelor purtătoare de tumori. Rezultatele experimentale nu confirmă această ipoteză, probabil, datorită faptului că mecanismele ce reglează absorbția alimentelor, precum și senzația de sațietate sînt mult mai complexe și nu sînt dependente exclusiv de hipotalamusul antero-median.

6.10.2.3.

Teoria lui Stein

Potrivit opiniei lui Stein (1978), cașexia canceroasă se bazează cu precumpănire pe competiția declanșată pentru substanțe metabolice (în special amino-acizi) între gazdă și țesutul tumoral. Tumoarea acaparează probabil mai mult anumiți amino-acizi, ceea ce duce la o dezechilibrare a balanței amino-acizilor, avînd ca rezultat anorexia.

Îndepărtarea unuia sau mai multor aminoacizi pune gazda în situația de a face față sintezei proteice cu amino-acizii reziduali; rata sintezei scade, iar balanța de azot a gazdei intră într-o fază negativă. În plus, organismul cașectic încearcă să-și regleze pierderile progresive de substanțe energetice prin inducerea unui proces de gluconeogeneză. Aceasta se realizează prin mobilizarea lipidelor și creșterea concentrațiilor de acetyl-coenzimă-A. La rîndul ei, acetyl-coenzimă-A inhibă complexul piruvat-dehidrogenază și blochează astfel oxidarea catenelor de carbon ale amino-acizilor și prin aceasta, utilizarea lor pentru producerea de energie de către gazdă. Metabolismul amino-acizilor este îndreptat astfel spre formarea de hidrați de carbon via gluconeogeneză, proces care necesită energie, în timp ce oxidarea amino-acizilor la CO_2 produce energie. Glucone-

geneza necontrolată determină pierderi mereu mai mari de energie și o accentuare a balanței negative de azot, manifestate clinic prin cașexie.

Nici această teorie nu poate explica de ce tumori de dimensiuni mici sînt capabile să inducă stări de cașexie și de ce organismele cu cancer nu sînt capabile să declanșeze mecanisme de reglare a aportului și consumului de substanțe nutritive.

6.10.2.4.

Teoria lui Williams

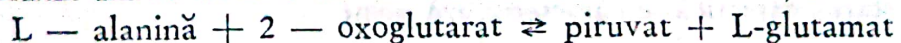
Williams face în 1980 o sinteză și o organizare secvențială a principalilor parametri care ar putea fi implicați în inițierea și menținerea stării de cașexie și anume:

- a) inducerea unor modificări enzimactice hepatice, avînd ca rezultat principal o reducere la acest nivel a activității alanin-amino-transferazei;
- b) prezența în sînge a unor concentrații mari de alanină provenită din mușchi, dependentă la rîndul ei de intensitatea oxidării în țesutul muscular a aminoacizilor ramificați;
- c) inducerea unui proces de gluconeogeneză bazat pe lactat și glicerol și nu pe lanțurile de carbon ale amino-acizilor glucogenici;
- d) asocierea unei secreții crescute de vasopresină, la dezechilibrul metabolic descris anterior;
- e) suprimarea prin vasopresină a oxidării acizilor grași cu lanțuri lungi și a producerii de corpi cetonici;
- f) acumularea unor cantități insuficiente de corpi cetonici în sînge, care să regleze oxidarea aminoacizilor ramificați în țesutul muscular.

Organizarea sintetică a acestor date evidențiază faptul că impactul metabolic principal îl reprezintă oxidarea necontrolată a amino-acizilor esențiali: leucina, valina și izoleucina. Această oxidare are loc în țesutul muscular, avînd ca rezultat creșterea cantităților de alanină eliberate apoi în sînge. Se ajunge astfel la o reducere treptată a masei musculare, precum și la o balanță negativă de azot, semne caracteristice stării de cașexie.

Pentru înțelegerea modificărilor complexe care intervin în cașexie, vom detalia etapele esențiale ale concepției lui Williams (1980).

- a) Alanin-amino-transferaza catalizează următoarea reacție:



Activitatea acestei enzime este neglijabilă în ficatul fetal, dar bine exprimată, în cel adult. Rolul principal al alanin-amino-transferazei îl constituie dezaminarea alaninei din sînge și formarea de piruvat. La rîndul său, piruvatul este substratul principal pentru sinteza glucozei prin gluconeogeneză, în ficat. Datorită lipsei de activitate a acestei enzime în ficatul fetal, acesta nu îndeplinește funcția gluconeogenetică.

S-a demonstrat experimental că la animalele purtătoare de tumori, nivelurile activității alanin-amino-transferazei scad pînă la nivelurile evidențiate în ficatul fetal. Acest proces se remarcă la animalele purtătoare de tumori care nu interesează ficatul (Williams, 1980).

Este deci evident faptul că proliferarea tumorală poate induce modificări metabolice la distanță, în organe neinvadate. Astfel, în ficat, se reduce activitatea alanin-amino-transferazei, singura enzimă capabilă să dezamineze alanina



în piruvat; în acest context piruvatul nu mai este disponibil pentru sinteza glucozei (gluconeogeneză). Feling a demonstrat în 1975 că, în condiții normale, alanina este amino-acidul cel mai intens utilizat în ficat în procesul de gluconeogeneză. Tumorile maligne induc o reducere a capacității ficatului de a utiliza acest important substrat al gluconeogenezei, iar bolnavii cașectici prezintă o hipoglicemie severă, hiperalaninemie și o balanță negativă de azot.

În ciuda dezechilibrului nutrițional al întregului organism, balanța de azot a masei tumorale nu este negativă, deoarece aceasta sechestrează, pe seama gazdei, amino-acizii necesari ratei sale rapide de creștere (capcană de azot) (Mider, 1951; Pitot, 1978).

b) Sinteza de alanină și oxidarea aminoacizilor ramificați în țesutul muscular.

În condiții de înfometare, în diabetul consumptiv sau la organismele cu cancer, din țesutul muscular se eliberează cantități mari de alanină.

Aceasta se datorește atât proteolizei, cât și sintezei „de novo” a alaninei în țesutul muscular. Biosinteza alaninei în mușchi reclamă, la rândul ei, oxidarea valinei, leucinei sau izoleucinei, amino-acizi esențiali, care nu pot fi furnizați decât prin alimentație.

c) Cașexia și anorexia cu hipoglicemie sînt intim legate de stimularea procesului de gluconeogeneză.

Se știe că substratul principal pentru gluconeogeneză este lactatul rezultat din glicoliza din țesuturile normale și tumorale, precum și glicerolul rezultat din hidroliza considerabilă a grăsimilor, care are loc în organele cu cancer.

Principalul combustibil pentru gluconeogeneză este alanina. Avînd în vedere că nivelul alanin-amino-transferazei hepatice scade la purtătorii de tumori maligne, dezaminarea alaninei, procesul de gluconeogeneză și, implicit, cel de biosinteză a glucozei sînt deficitare la aceste cazuri.

Pe de altă parte, Buse și colab. (1972) au demonstrat că creșterile fiziologice ale concentrațiilor de corpi cetonicici din sînge reglează (inhibă) atât oxidarea amino-acizilor ramificați din țesutul muscular, cât și eliberarea alaninei din acest țesut. Concentrația corpi cetonicici în sînge la bolnavii cașectici scade. În plus, la organismele cu cancer au fost detectate cantități crescute de vasopresină, care contribuie substanțial la scăderea corpi cetonicici. Se pare deci că secreția crescută de vasopresină participă la menținerea stării de cașexie.

O integrare a evenimentelor enunțate în teoria lui Williams evidențiază faptul că starea cașectică se caracterizează prin:

- degradarea cronică a proteinelor;
- eliberarea de alanină din mușchi, asociată cu incapacitatea ficatului de a utiliza alanina pentru gluconeogeneză;
- pierderea ireversibilă prin urină a azotului muscular;
- sinteza scăzută de corpi cetonicici de către ficat și astfel o reglare insuficientă a pierderii de alanină din țesutul muscular.

Dacă acest dezechilibru persistă, se ajunge rapid la o pierdere de 1/3 pînă la 1/2 din proteinele masei musculare, situație care prin ea însăși este suficientă pentru a provoca moartea.

Deși această ultimă teorie este cea mai completă, datorită faptului că urmărește alterarea principalelor căi metabolice răspunzătoare pentru inducerea și menținerea stării de cașexie, realitatea practică este departe de a fi descifrată.

Între organism și tumoarea malignă se stabilesc relații și dependențe, care

în cele din urmă permit proliferarea tumorii și spolierea gazdei. Este cel mai frecvent tip de evoluție, regresivitatea spontană fiind rarită. Din acest motiv, mecanismele ce colaborează la instituirea și menținerea sindromului anorexie-cașexie necesită încă studii ample de viitor.

Bibliografie

- ABERCROMBIE M. — *Canad. Cancer Conf.*, 1961, 4, 101, 117.
 ATKIN N. B., BAKER M. G. — *Brit. J. Cancer*, 1969, 23, 329.
 ATKIN N. B. — *Genetics Concepts And Neoplasia*, Ed. Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1970, p. 36.
 BASERGA R. — *New Engl. J. Med.*, 1981, 304, 8, 453—459.
 BELPOMME D. — *Cancerologie Generale*, Ed. J. B. Baillière, Paris, 1979, 69—80.
 BERWICK I., COMAN D. R. — *Cancer Res.*, 1962, 22, 982—986.
 BREM H., FOLKMAN J. — *J. Exp. Med.*, 1975, 141, 427—439.
 BRENNAN M. F. — *Cancer Res.*, 1977, 37, 2 359—2 364.
 CHIRICUȚĂ I., BOJAN O. — *Tumorile maligne*, in: *Patologia biochimică*, Ed. medicală, București, 1974, p. 886—928.
 COMAN D. R. — *Cancer Res.*, 1961, 21, 1 436—1 438.
 EAVES G. — *J. Pathol.*, 1973, 109, 233—237.
 FIDLER I. J. — *Nature New Biol.*, 1973, 242, 118, 148—149.
 FIDLER I. J. — *General considerations for studies of experimental cancer metastasis*, *Methods in Canc. Res.*, Academic Press, 1978, XV, 399—439.
 FIDLER I. J., GERSTEN D. M., HART I. R. — *The biology of cancer invasion and metastasis*, *Advanc. Cancer Res.*, 1978 b, 28, 149—250.
 FOLKMAN J., MERER E., ABERNATHY C., WILLIAMS G. — *J. Expl. Med.*, 1971, 133, 2, 275—288.
 FOLKMAN J. — *Advanc. Cancer Res.*, 1974, 19, 331—358.
 FOLKMAN J. — *Sci. American*, 1976, 234, 5, 58—73.
 FOULDS L. C. — *Cancer Res.*, 1954, 14, 327—399.
 GIMBRONE M. A. jr., GUILLINO P. M. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1976, 56, 2, 305—318.
 GOLD J. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1974, 220, 103—110.
 GOLDACRE R. J., SYLVEN B. — *Brit. J. Cancer*, 1962, 16, 306.
 GUILLINO P. M. — *Gann*, 1977, 20, 49.
 CHIRICUȚĂ I., MUSTEA I., ROGOZAN I. și colab. — *Cancer (Philad.)*, 1965, 18, 978.
 LATNER A. L., SKILLEN A. W. — *Isoenzymes in Biology and Medicine*, Academic Press, Londra — New York, 1968, 1—3.
 LEJEUNE J. — *Les Chromosomes Humains*, R. Turpin et J. Lejeune, Ed. Gauthier Villars, Paris, 1965.
 LIOTTA L. A., KLEINERMAN J., CATANZARO P., RYNBRANDT D. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1977, 58, 1 427, 1 431.
 LIOTTA L. A., TRYGGVASON K., GARBISA SPIRIDONE și colab. — *Biochemistry*, 1981, 20, 100—104.
 MAKINO S., SASAKI M. S., TONOMURA A. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1964, 32, 741.
 MATHÉ G., CATTAN A. — *Cancérologie*, Expansion Scientifique Française, 1976, p. 19—95.
 MAREEL M. M. — *Recent aspects of tumour invasiveness*, In: *International Review of Exp. Pathol.*, Ed. G. W. Richter, M. A. Epstein, Academic Press, New York, 1980, p. 132—192.
 MIDER G. B. — *Cancer Res.*, 1951, 11, 821—829.
 MORRISON S. D. — *Cancer Res.*, 1975, 35, 3 339—3 342.
 NICOLSON G. L., ROBBINS J. C., WINKELHAKE J. L. — *Tumour cell surfaces and metastasis: dynamic changes in neoplastic membrane structure and their relationship to tumour spread*, In: *Cellular membranes and tumour cell behavior*, Williams and Wilkins Comp., 1975, p. 81—127.
 NICOLSON G. L., WINKELHAKE J. L., NUSSEY A. C. — *An approach to studying the cellular properties associated with metastasis: some in vitro properties of tumour variant selected in vivo for enhanced metastasis*, In: *Fundamental Aspects of Metastasis*, Ed. L. Weiss, North-Holland Publ. Co., Amsterdam, 1976, p. 291—303.
 NICOLSON G. L., BRUNSON K. W. — *Gann*, 1977, 20, 15—24.
 NOWELL P. C. — *Science*, 1976, 255, 23—28.

7. Procesul de metastazare

I. CHIRICUȚĂ ● RODICA RIȘCĂ

Cuprins

- 7.1. Istoric — 235
- 7.2. Clasificarea metastazelor — 237
- 7.3. Metastazarea pe cale limfatică — 237
 - 7.3.1. Diseminarea celulelor tumorale pe cale limfatică — 238
 - 7.3.2. Structura normală a ganglionului limfatic — 241
 - 7.3.3. Ganglionul limfatic, barieră în calea diseminării tumorale — 242
 - 7.3.4. Reacții ale limfoganglionilor regionali în evoluția tumorilor maligne — 243
- 7.4. Metastazarea pe cale sangvină — 248
 - 7.4.1. Pătrunderea celulelor tumorale în sistemul circulator — 248
 - 7.4.2. Citemia canceroasă — 249
 - 7.4.3. Oprirea embolilor tumorali în capilarele sangvine în organe la distanță — 249
 - 7.4.4. Invadarea și traversarea pereților capilari — 255
 - 7.4.5. Inducerea stromei vasculare și constituirea unei tumori secundare cu creștere autonomă — 255
 - 7.4.6. Focarele metastatice în stare „dormant” — 255
 - 7.4.7. Metastazarea metastazelor — 256
- 7.5. Relațiile tumoare-gazdă în evoluția metastazelor — 256
- 7.6. Căile vasculare de metastazare — 258
- 7.7. Metastazarea în seroase — 259
- 7.8. Diseminarea cerebro-spinală — 260
- 7.9. Metastaze prin implantare pe suprafețele epiteliale — 260
- 7.10. Studii experimentale asupra procesului de metastazare — 260
- 7.11. Concluzii — 262

7.1. Istoric

Cauză majoră a eșecurilor terapeutice, *metastaza* este un focar tumoral secundar situat la distanță de tumoarea primară. Acest nou focar tumoral se formează pe baza celulelor canceroase desprinse din tumoarea primară, migrate activ și nidate la distanță.

Termenul de metastază a fost utilizat pentru prima dată de Récamier în 1829, pentru a descrie tumorile secundare dezvoltate în creierul unei bolnave cu cancer mamar, dar primele observații asupra diseminării tumorale datează încă de pe vremea lui Galenus (131—203 e.n.). În concepția sa, bila neagră

(una dintre cele 4 umori ale organismului) ar fi responsabilă pentru malignitate; oriunde se concentrează, se dezvoltă un cancer. Abia după 1400 de ani Paracelsus modifică teoria bilei negre și afirmă că rolul major în etiologia cancerului îl joacă concentrațiile mari de săruri minerale în anumite organe.

În 1828, Johan Peter Müller face epocala descoperire a structurii celulare a tumorilor maligne. Este surprinzător faptul că anatomo-patologi de talia lui Virchow și Paget, care au lăsat tratate memorabile asupra structurii celulare a tumorilor maligne, nu consideră necesară migrarea celulelor canceroase din tumoarea primară pentru a constitui metastaze. În concepția autorilor diseminarea s-ar face pe seama unor fluide care migrează și modifică țesuturile la distanță, concepție foarte asemănătoare cu teoria lui Galenus.

Karl Thiersch (1822—1895) (cit. de Sugarbaker, 1979), studiind sistematic metastazele tumorilor epiteliale ale pielii, a remarcat prezența de celule tumorale în limfoganglioni. Pentru prima dată s-a evidențiat deci că focarele tumorale secundare se produc prin embolizarea a însăși celulelor canceroase. Ulterior, Langenbeck (1841) a demonstrat că celulele tumorale pot fi identificate microscopic în sângele bolnavilor cu metastaze, iar Thiersch a reușit să determine căile mecanice de diseminare pentru carcinoamele gastrointestinale.

Un nume care a influențat puternic conduita chirurgicală la începutul secolului XX, a fost William S. Handley (1907). Bazându-se pe numeroase autopsii practicate la cazurile cu cancer mamare și melanoame maligne, autorul afirmă că metastazele limfo-ganglionare se constituie prin permeația vaselor limfatice din jurul tumorii primare. Descrierea exactă a căilor mecanice de metastazare limfatică efectuată de Sappey în 1874, ca și lucrările lui Handley, au orientat gândirea chirurgilor spre operații radicale în cancer, unde, pe lângă organul bolnav, trebuie să se extirpe obligator și căile limfatice satelite organului.

De la această etapă de observație anatomo-clinică, s-a trecut la perioada oncologiei experimentale, iar în jurul anului 1950, o dată cu dezvoltarea liniilor pure de animale (Snell), studiile experimentale asupra procesului de metastazare s-au dezvoltat cu foarte mare rapiditate. Acest moment determină o adevărată revoluție în cercetare, permițându-se inducerea și selecționarea unor tumori, precum și a unor specii și linii de animale care să permită standardizarea experiențelor și să asigure reproductibilitatea rezultatelor.

Studiile experimentale artificializează de fapt fenomenele observate în clinica umană și încearcă să reproducă cât mai exact aceste fenomene clinice în condiții experimentale. În ciuda faptului că prin transpunerea în oncologia umană a rezultatelor obținute experimental rămân întrebări la care este încă greu de găsit un răspuns, totuși, experimentul pe animal, rămâne singura cale valabilă pentru descifrarea problemelor fundamentale legate de biologia cancerului.

Prin definiție metastaza este o leziune neoplazică provenită din alt cancer, cu care nu este în continuitate. Aceasta necesită ca procese esențiale, separarea celulelor din tumoarea primară, migrarea lor activă și nidarea la distanță. Tumorile maligne sînt constituite dintr-o mare varietate de subpopulații celulare cu capacități diferite de invazie și metastazare. În realitate, în evoluția tumorilor, se selecționează linii celulare cu potențial crescut de metastazare, capabile să utilizeze mecanismele homeostatice ale gazdei, în scopul propriei lor supraviețuirii și creșteri. Aceste linii celulare sînt răspunzătoare de constituirea focarelor metastatice (Fidler, 1978).

7.2.

Clasificarea metastazelor

(Costăchel, 1964)

a) În funcție de raportul structural dintre organele sau țesuturile metastazate:

- elective (invazia anumitor organe sau țesuturi — metastaze preferențiale);
- neelective (invazia fără alegere în diferite organe și țesuturi).

b) În funcție de durata latenței de la decelarea tumorii primitive:

- precoce: (apărute înainte de un an de la decelarea tumorii primare);
- tardive: (apărute după mai mulți ani de la decelarea tumorii primare).

c) În funcție de calea sau modul de propagare:

- limfogene;
- hematogene
- de-a lungul cavităților naturale;
- prin cavitățile seroase;
- prin inoculare (de exemplu în timpul exerezei chirurgicale a unui cancer).

d) În funcție de ritmul evolutiv:

- acute;
- torpide.

e) În funcție de factorul cocancerigen (în caz că este cunoscut):

— terapeutice (de exemplu după o evoluție liniștită și îndelungată a unui schir, în urma unor tratamente chirurgicale, radiologice, hormonale intempestive apar metastaze în câteva luni);

- accidentale (fracturi, apariția unor metastaze pe locul fracturii), traumatisme etc.
- profesionale (intoxicații etc.).

Constituirea unei metastaze necesită o adevărată cascadă de evenimente fundamentale și anume:

- a) eliberarea celulelor din tumoarea primară;
- b) diseminarea celulelor eliberate prin una din căile de metastazare (limfatică, sangvină etc.);
- c) oprirea celulelor diseminate într-un organ secundar;
- d) proliferarea și creșterea celulelor oprite și constituirea unei tumori secundare;
- e) metastaze din metastaze.

7.3.

Metastazarea pe cale limfatică

Rolul sistemului limfatic (limfă, limfatice, limfoganglioni), în procesul de metastazare, continuă să fie un subiect de controverse și speculații (Fisher, 1977). Idei care au devenit clasice susțin că într-un ganglion satelit unei tumori primare se poate dezvolta fie o tumoare secundară, fie o hiperplazie reticulo-endoteliolinfatică reacțională. Un fapt cert este că prezența sau absența metastazelor ganglionare joacă un rol de mare importanță în stabilirea prognosticului.

Sistemul limfatic colectează limfa din spațiile interstițiale prin intermediul capilarelor limfatice. Mai multe asemenea capilare se unesc și formează vasele limfatice aferente care traversează capsula și pătrund în limfoganglioni. Limfa

circulă mai întâi în sinusurile corticale, iar apoi în cele medulare. Captată în zona hilului de vase eferente, limfa ajunge la un alt limfoganglion, așa încât vasul eferent al unui prim limfoganglion devine aferent pentru următorul. De cele mai multe ori limfaticele tributare unei regiuni nu se varsă într-un singur limfoganglion, ci într-un grup de ganglioni legați între ei printr-o rețea anastomotică (fig. 7.1). În final toate vasele limfatice din organism converg spre cele două trunchiuri limfatice mari; canalul toracic și marea venă limfatică; ambele trunchiuri se varsă în sinusul venelor mari de la baza gâtului (în stînga canalul toracic, în dreapta marea venă limfatică).

Mult timp s-a crezut că singurele comunicații între sistemul limfatic și cel sangvin se stabilesc prin venele de la baza gâtului și că limfa nu poate ajunge în sânge fără să traverseze cel puțin un limfoganglion (Bartles, cit. de Fisher, 1971).

Cercetări care datează încă din anii 1955 (Yoffey și Courtice) au demonstrat existența unor comunicații directe între venele de calibru mic și limfaticele aferente, înainte de pătrunderea acestora în limfoganglion. Chiar dacă, așa cum menționează Rusznyak (1960), aceste comunicații sînt neglijabile în condiții fiziologice, potrivit opiniei lui Weiss (1980) ele devin căi reale sub influența leziunilor proliferative compresive, capabile să crească presiunea în zona afectată.

O altă problemă mult discutată este existența unor comunicații limfatice-venoase în interiorul limfoganglionilor și rolul acestora în diseminarea celulelor tumorale (Pressman și Simon, 1961; Sabitson și colab. 1963). Rezultatele experimentale obținute de Fisher și Fisher (1966 a și b; 1967 a și b) și Cruciani (1965), demonstrează atît transmigratia ganglionară, cît și posibilitatea folosirii de către celulele tumorale a acestor comunicații în cursul procesului de diseminare.

Pe de altă parte, existența a numeroase comunicații interlimfatice, de exemplu între limfaticul aferent și eferent, cu ocolirea ganglionului, realizează o largă rețea de vase limfatice și numeroase posibilități pentru localizări metastatice cu topografie neobișnuită (fig. 7.1).

7.3.1.

Diseminarea celulelor tumorale pe cale limfatică

Observațiile clinice sugerează că în general carcinoamele metastazează pe cale limfatică, iar sarcoamele pe cale hematogenă (Sugarbaker și Ketcham, 1977). În lumina cunoștințelor recente asupra organizării sistemului limfatic, această împărțire este arbitrară, iar cele 2 sisteme sînt inseparabile.

Teoretic, invadarea directă a vaselor limfatice se realizează prin două modalități:

- fie sub formă de mase celulare compacte care injectează sau invadează vasul din aproape în aproape, în sensul circulației limfei (permeația lui Handley) și ajung astfel la un prim releu ganglionar;
- fie sub formă de elemente celulare libere, care sînt vehiculate de limfă spre ganglionul corespunzător.

Invadarea ganglionilor limfatici de către celulele canceroase se face prin vasele lor aferente. Metastazele recente sînt situate aproape totdeauna în sinusul cortical și sînt constituite din celule izolate sau din mici grupuri celulare, unice sau multiple, după cum invazia a avut loc printr-un vas, sau prin mai multe vase

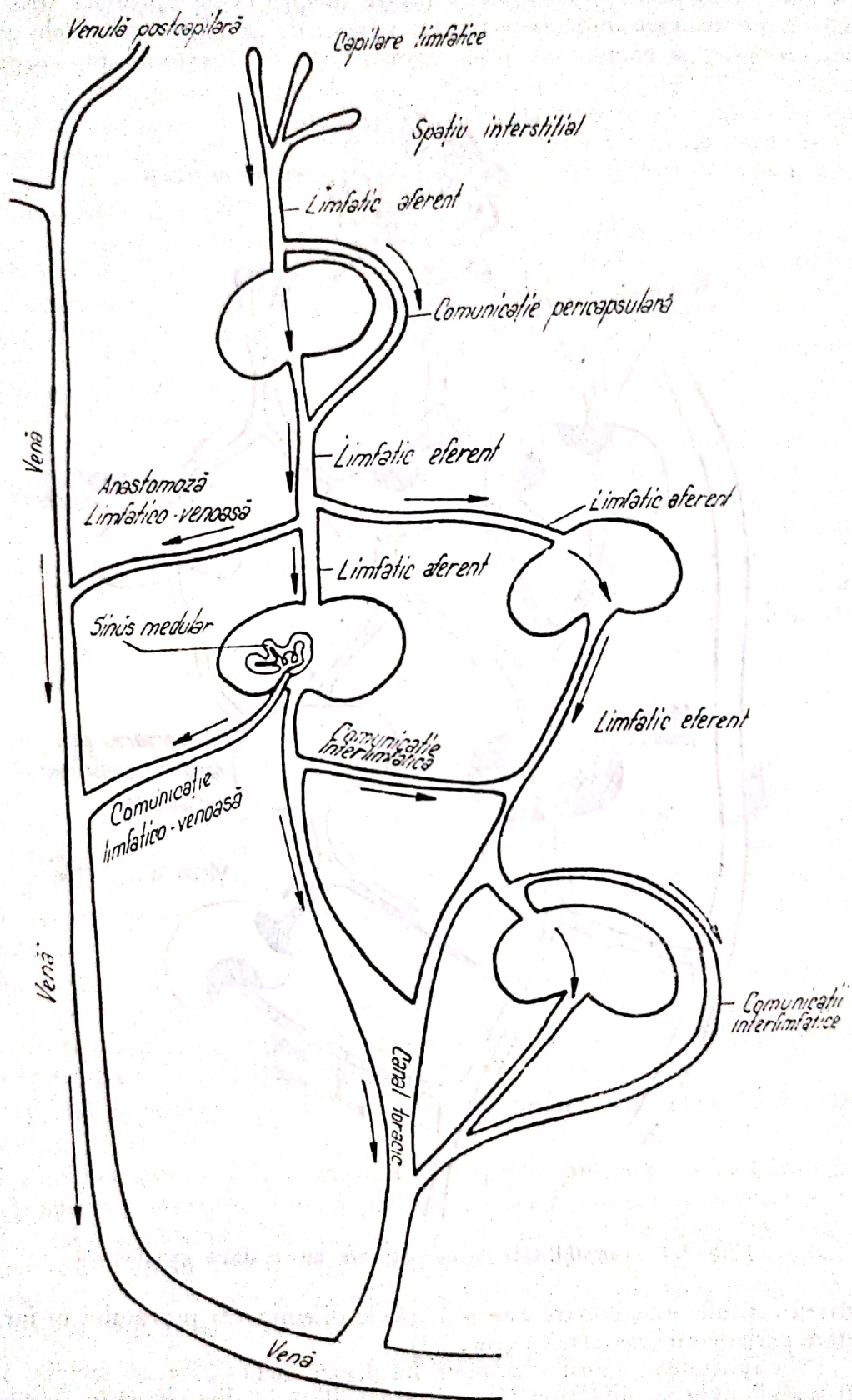


Fig. 7.1. — Posibilități de circulație a limfei într-o stație ganglionară.

aferente. Prin proliferarea acestor focare incipiente se reproduce structura tumorii primare, care înlocuiește treptat structurile ganglionare. În cele din urmă, metastaza ocupă ganglionul în întregime, limitată la exterior prin capsulă. În-

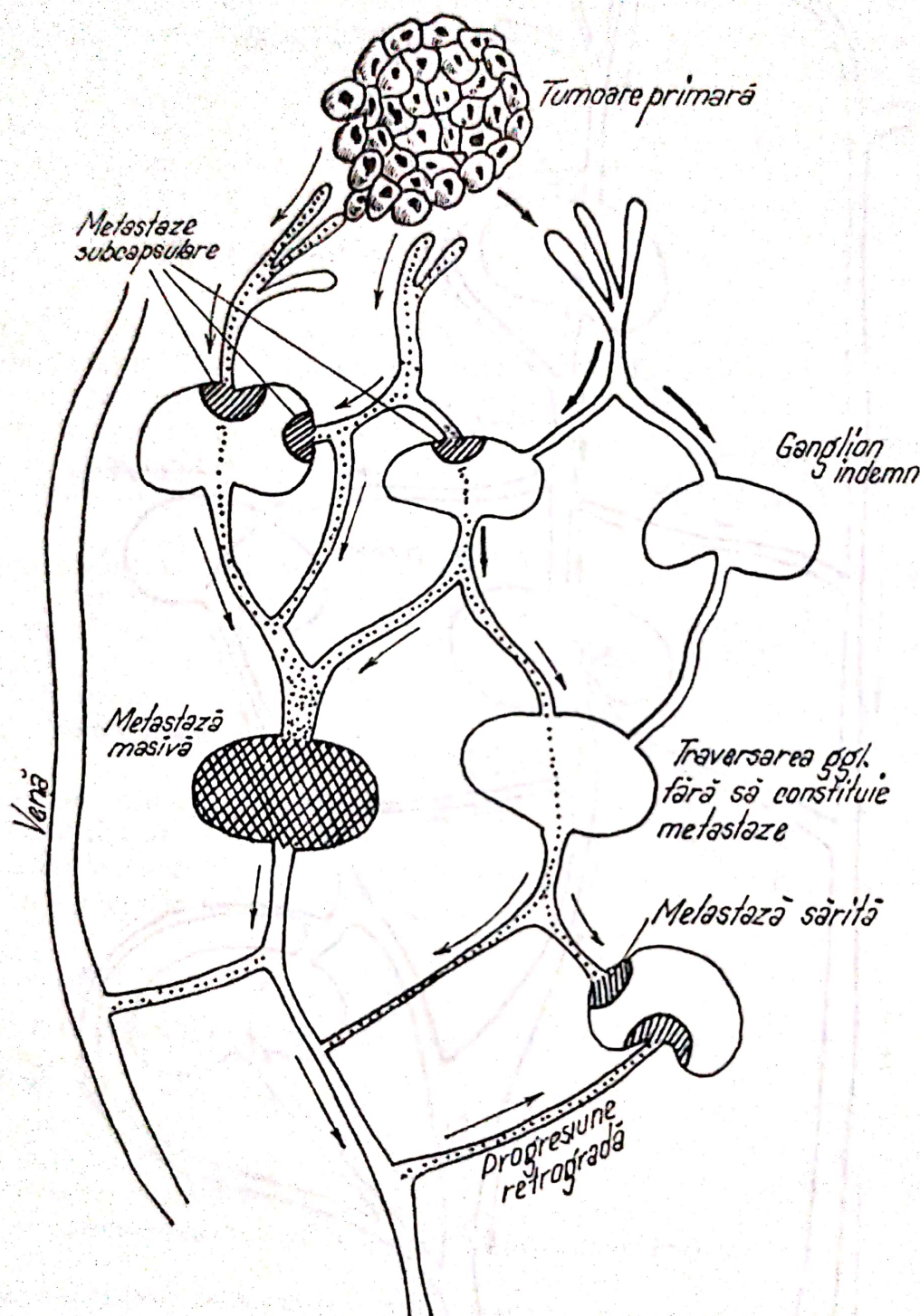


Fig. 7.2. — Posibilități de metastazare într-o stație ganglionară.

vadarea capsulei ganglionare este urmată de diseminarea procesului în jur, dând naștere periadenitei neoplazice (fig. 7.2).

În majoritatea cazurilor primele localizări metastatice se fac în stațiile limfoganglionare satelite tumorii primare, adică în limfoganglionii regionali (LGR).

Cunoștințele recente asupra organizării și dispoziției sistemului vaselor limfatice au demonstrat însă, așa cum s-a văzut anterior, existența unor căi limfatice care permit ocolirea LGR, dând naștere unor metastaze ganglionare la distanță mare de tumoarea primară, „metastaze sărite” (fig. 7.2). De asemenea, există posibilitatea ca vasele limfatice, în conexiune directă cu canalul toracic, fără interpunere de ganglioni, să fie invadate de celule tumorale, care, la rîndul lor, pot să treacă în circulația generală, via canal toracic și vasele de la baza gîtului (Zeidman, 1965).

Fluxul normal al limfei poate fi deviat de existența unui obstacol în circulația limfatică, cauza unei progresiuni retrograde, precum și a deschiderii și utilizării colateralelor limfatice (Ariel și Resnick, 1967; Crile și Scofield, 1969; Ludwig și Titus, 1967). În condiții normale există o rețea vastă de asemenea colaterale, iar o obstrucție a vaselor limfatice poate să determine deschiderea lor și diseminarea celulelor tumorale la distanță, în limfoganglioni care nu drenează direct regiunea purtătoare de tumoare.

În cazul în care dezvoltarea limfaticelor colaterale este insuficientă și nu poate compensa obstrucția, are loc o deviere a limfei spre derm. Această regurgitare a limfei în rețeaua dermică este unul din mecanismele prin care celulele canceroase (în special melanocitele) sînt transportate în cele mai fine limfatice superficiale. În plus, obstrucția limfatică favorizează și deschiderea comunicațiilor limfatice-vasculare, un modus operandi, pentru ca celulele tumorale să pătrundă în circulația sangvină (Ariel și Resnick, 1967; Crile și colab. 1971; Threefoot și Kossover, 1966).

7.3.2.

Structura normală a ganglionului limfatic

Încă în 1860 Virchow a descris limfoganglionul ca fiind format din „elemente celulare aglomerate ca într-un filtru de cărbune”. Gîndirea morfo-patologilor a fost mult timp dominată de ideea că această configurație reticulară i-ar conferi ganglionului rolul de simplă barieră mecanică în calea structurilor particulare.

Acumularea de informații clinice și experimentale a impus restructurarea vechilor opinii și plasarea limfoganglionilor într-o poziție centrală în cadrul organelor răspunzătoare de declanșarea reacțiilor de apărare atît în procesele inflamatorii, cît și în cele tumorale.

Aspectul morfologic al limfoganglionilor diferă cu specia, localizarea, vîrsta etc.

Ganglionul este învelit la exterior de capsulă. Sub aceasta se găsește sinusul subcapsular, care prin intermediul sinusoidelor radiale comunică cu sinusoidale medulare. Acestea din urmă se unesc și, la nivelul hilului, formează vasele limfatice eferente. Toate sinusoidale limfatice au o structură asemănătoare, cu excepția celor din sinusurile medulare, care au ca trăsătură particulară un conținut mai ridicat de macrofage.

Parenchimul ganglionar este constituit dintr-o cantitate mare de celule aparținînd sistemului limfo-reticular, așezate pe o rețea vastă de fibre de reticulină și fibroblaste.

Standardizarea imuno-histologică a structurilor ganglionare recomandată de OMS (Cottier și colab. 1972) (fig. 7.3):

a) zona corticală, situată imediat sub sinusul subcapsular, este compusă, în mare parte, dintr-o populație densă de limfocite mici. În această zonă sînt localizați foliculii limfatici și centrul germinativ;

b) foliculii limfatici — formațiuni nodulare compuse predominant din limfocite mici și mijlocii;

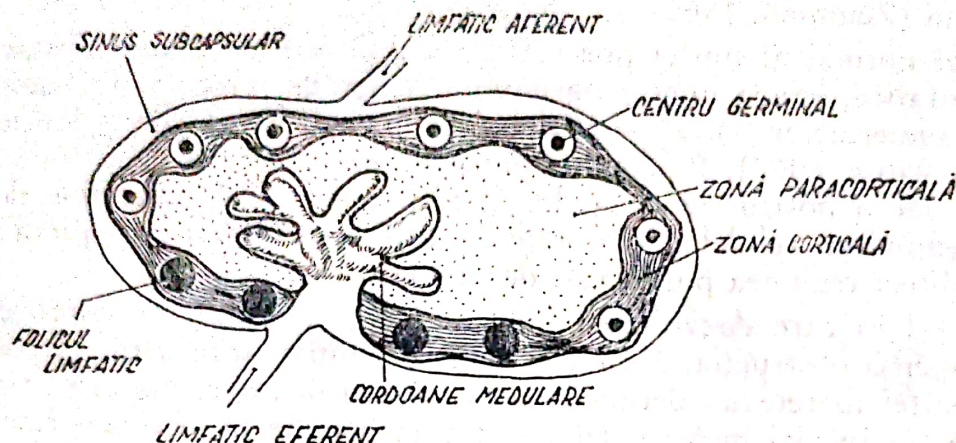


Fig. 7.3. — Zonele imunologice active din ganglionul limfatic (Cottier și colab., 1973).

c) centrul germinativ — structuri sferice înconjurate de un strat dens de limfocite mici. Sînt formați în mare parte din celule limfoide mari, din care multe în mitoză, precum și dintr-un număr considerabil de macrofage cu corpusculi metacromatici (conținând resturi nucleare). Centrul germinativ are o zonă mai slab colorată, în general orientată spre capsulă, în care sînt aglomerate limfocite mari și mijlocii, precum și plasmocite imature. Rețeaua de susținere a centrilor germinativi este formată dintr-o tramă laxă de celule reticulare dendritice. Ca urmare a unui stimul antigenic intens și persistent, centrul germinativ se hipertrofiază, putînd să se extindă pînă la cordoanele medulare. Prezența centrilor germinativi este asociată producerii de anticorpi, dar funcția lor exactă încă nu se cunoaște;

d) zona paracorticală este situată sub zona corticală și este definită ca o zonă de țesut limfoid, în relații strînse cu venulele postcapilare, prin care pătrund limfocitele T, ce populează aproape exclusiv această regiune. Este zona care se hiperplaziază intens în timpul răspunsurilor imune mediate celular;

e) cordoanele medulare — sînt constituite predominant din limfocite B, dar conțin și o cantitate apreciabilă de plasmocite mature și tinere.

7.3.3.

Ganglionul limfatic, barieră în calea diseminării tumorale

Problema rolului de filtru-barieră pe care l-ar juca limfoganglionii în calea diseminării celulelor tumorale constituie o temă de multiple controverse. În mod cert, celulele tumorale pot trece cu multă ușurință din sistemul limfatic în vasele de sînge și înapoi în limfatice.

Revizuirea vasta literatură din acest domeniu, Străuli (1970) își pune legitimă întrebare dacă condițiile experimentale sînt relevante pentru comporta-

mentul tumorilor maligne umane a căror caracteristică este eliberarea și diseminarea continuă de celule tumorale viabile.

Majoritatea experiențelor s-au efectuat pe limfoganglioni normali, care nu se aseamănă cu LGR reactivi de la bolnavii canceroși. Mai mult, în numeroase studii, rolul filtrelor ganglionare a fost testat prin injectări intralimfatice de particule de cărbune, bacterii sau eritrocite, a căror asemănare cu celulele maligne circulante este discutabilă.

Rezultatele experiențelor făcute cu doze diferite de celule tumorale (Zeidman și Buss, 1954; Carr și McGinty, 1974; Fisher și Fisher 1966; 1967; 1976), aduc însă dovezi asupra ineficienței funcției de barieră a limfoganglionilor în calea diseminării acestora. Un mic număr de celule tumorale injectate s-au localizat în limfoganglioni, altele au traversat bariera ganglionară și s-au orientat spre alte organe. Pe de altă parte, dată fiind heterogenitatea tumorilor maligne în privința capacității lor invazive și metastazante, este ușor de înțeles de ce nu toate celulele tumorale constituie focare secundare. În plus, trebuie amintit faptul că între procesul tumoral malign și organismul gazdă există un permanent antagonism; în ultimă instanță, evoluția cancerului va depinde de rezultatul acestui antagonism.

Datele recente asupra sorții celulelor tumorale ajunse în ganglion evidențiază următoarele posibilități:

- a) într-o fază incipientă celulele tumorale pot fi reținute în ganglion și distruse de celulele imunologic competente;
- b) pentru un timp mai mult sau mai puțin îndelungat, celulele tumorale pot rămâne în ganglion, în stare „dormindă”;
- c) celulele tumorale au capacitatea de a traversa ganglionul și de a se disemina în continuare pe cale sangvină;
- d) prin diviziuni repetate, celulele tumorale pot să populeze limfoganglionii regionali sau la distanță, constituind metastaze.

7.3.4.

Reacții ale limfoganglionilor regionali în evoluția tumorilor maligne

Nu toți ganglionii sateliți unei tumori primare au localizări metastatice. În numeroase cazuri, ganglioni hipertrofiați de 2—3 ori față de volumul inițial nu conțin nici un focar metastatic. Aceste observații i-au determinat pe numeroși cercetători să efectueze studii sistematice în scopul înțelegerii semnificației modificărilor din L.G.R.

În 1953 Black și colab. au afirmat că în cancerul mamar, mărirea volumului ganglionilor axilari prin hiperplazia histiocitară care umple și destinde capilarele sinusoidale, așa numita histiocitoză sau reticulo-endotelioză sinusală, constituie un semn de prognostic favorabil (fig. 7.4). Aceeași semnificație li se acordă și hiperplaziilor limfoide sau reacțiilor sarcoide (Denoix, 1968). Autorii consideră că aceste aspecte ar fi rezultatul faptului că ganglionul situat în vecinătatea unei tumori maligne a „reacționat” față de celulele tumorale ajunse aici și le-a distrus.

Masson (1956) afirmă că reacțiile din ganglionii regionali sînt adesea de o mare precocitate și se pot caracteriza printr-o hiperplazie foliculară, cu centri clari, lărgiți sau, în alte cazuri, prin dispariția centrilor clari, cu confluența foliculilor și cordoanelor într-o masă limfoidă confuză.

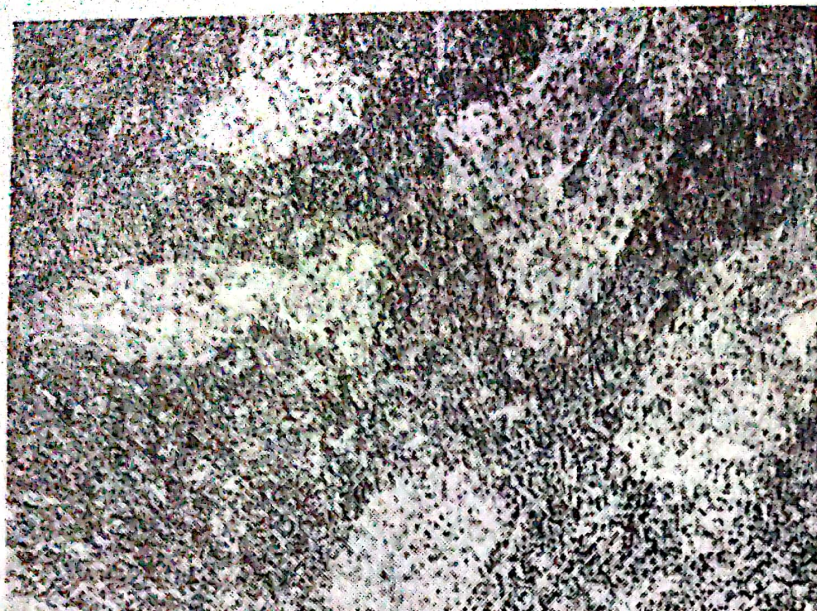


Fig. 7.4. — Histiocitoză sinusală într-un ganglion axilar. Col. H.E. $\times 70$.

Histiocitoza sinusală, posibilitate de reacție a ganglionului mult discutată în literatură, este pentru Cutler și Black (1966) un important element de prognostic. Absența histiocitozei, chiar în lipsa metastazelor ganglionare, ar indica o recidivă în primii 5 ani. Când metastazele sînt prezente, chiar dacă există o reacție histiocitară în sinusuri, aceasta îmbracă un caracter degenerativ.

Potrivit părerii lui Wartman (1959), un rol esențial în reacțiile de apărare îl constituie hiperplazia foliculară combinată cu o hiperplazie reticulară difuză și apariția de noduli granulomatoși limfo-plasmocitari.

Chiricuță, Călușer și colab. (1965), prin studiile efectuate pe material provenit din cancere mamare și de col uterin, ajung la concluzia că histiocitozei sinusale nu i se poate atribui o importanță patognomonică în evoluția bolii canceroase, deoarece aceasta constituie un răspuns intens și prompt față de orice proces iritativ. Pentru autori, elementul esențial îl prezintă „clarificarea” foli-
culilor limfoizi, asociată cu creșterea numărului de celule pironinofile.

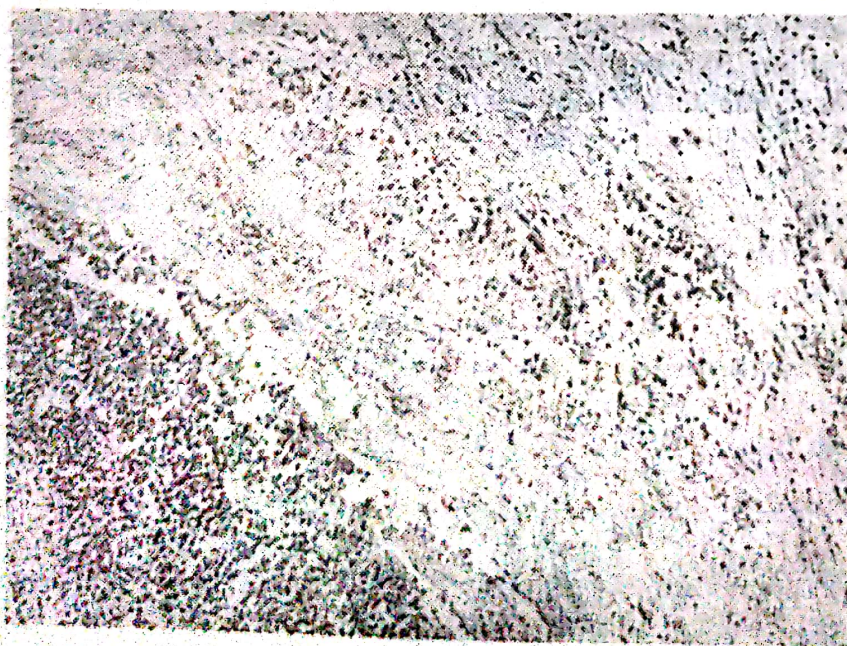
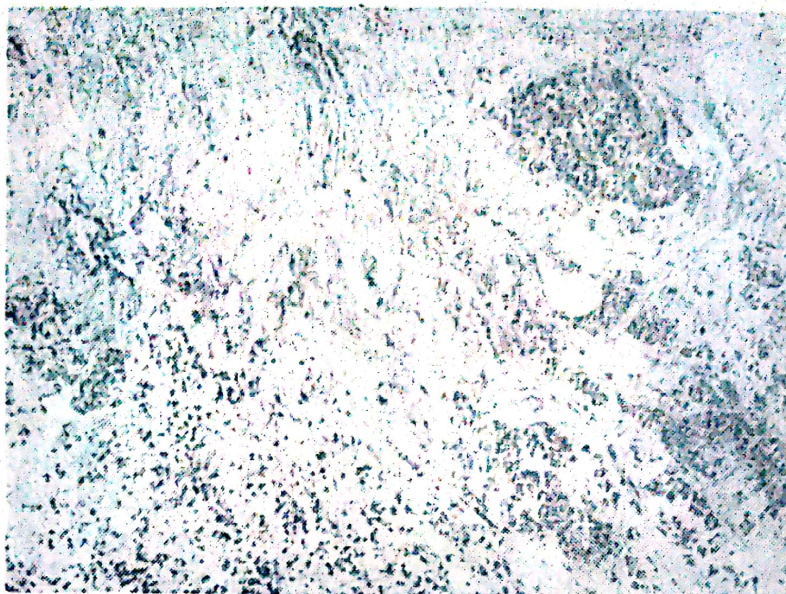


Fig. 7.5. — Secțiune histologică prin zona de afron-tare dintre explantul tu-moral și cel limfoganglio-nar. Se remarcă migrarea limfocitară în fragmentul tumoral (24 de ore de cul-tivare, col. H.E. $\times 70$).

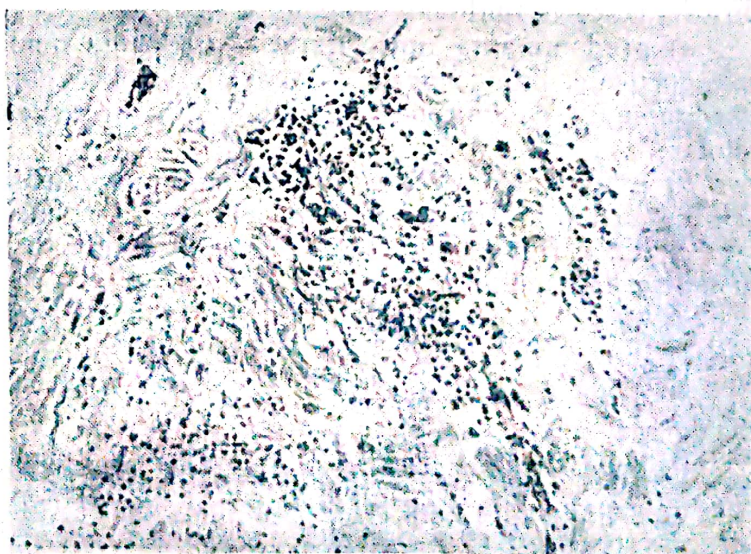
Fig. 7.6. — Explant tumoral cu acumulare pronunțată de limfocite în și în jurul nodulilor tumorali. Modificări citotoxice în stînga; nodul tumoral neafectat în dreapta (24 de ore de cultivare, col. H.E. $\times 70$).



Ulterior, Chiricuță, Todoruțiu și colab. (1978), au studiat capacitățile reactive imune ale bolnavelor cu cancer mamar (stadiu I și II) printr-o metodă *in vitro*, înfruntînd în cultură de organ explante de limfoganglioni axilari homolaterali cu explante de tumoare mamară autoloagă. S-a constatat apariția unui fenomen de migrație limfocitară dinspre fragmentul ganglionar spre cel tumoral, urmat de infiltrație limfocitară în și în jurul nodulilor tumorali și fenomene citotoxice tumorale. Acest aspect a apărut numai în cazul bolnavelor fără metastaze ganglionare sau cu un număr redus (1—3) de ganglioni invadați. În general acest proces a corespuns cu prezența *in vivo* a modificărilor morfologice cunoscute (infiltrație limfocitară în stroma tumorii, hiperplazia zonei paracorticale și a elementelor plasmocitare, histocitoză sinusală în ganglioni) (fig. 7.5, 7.6, 7.7, 7.8).

În opoziție cu rezultatele menționate, Berg (1956), susține că singurul criteriu de prognostic în evoluția bolii canceroase este prezența sau absența me-

Fig. 7.7. — Explant tumoral cu acumulare pronunțată de limfocite în și în jurul nodulilor tumorali; modificări tumorale citotoxice (48 de ore de cultivare, col. H.E. $\times 70$).



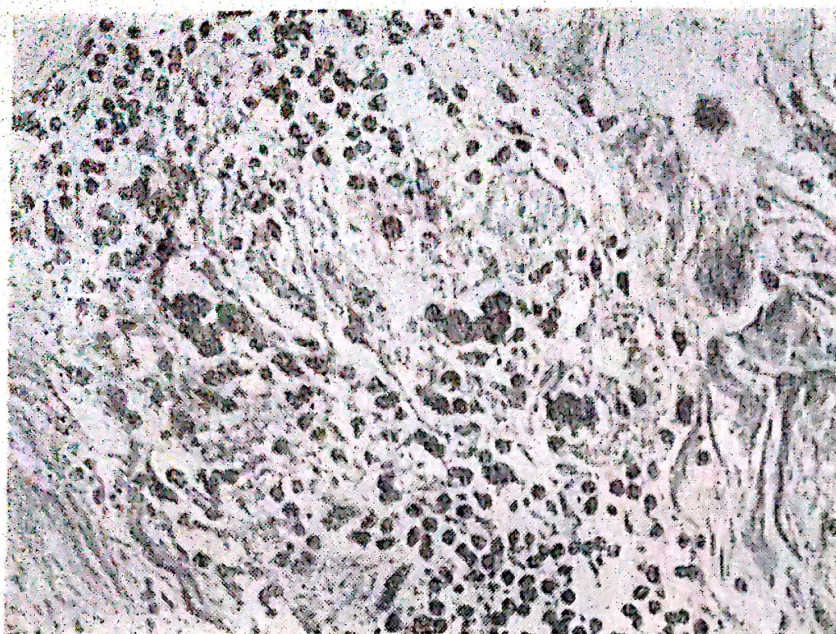


Fig. 7.8. — Detaliu din zona tumorală ilustrată în fig. 7.7. (col. H E. $\times 140$).

tastazelor. Mai sceptic, Willis (1973) afirmă că „nu a remarcat dovezi histologice ale unei activități anticanceroase a țesutului limfoid; din contră, există toate semnele că acest țesut ar furniza un teren foarte fertil pentru creșterea a numeroase tumori maligne.”

Reacțiile imune și implicațiile lor în oncologie sînt preocupări de cercetare de mai bine de 20 de ani. La ora actuală se consideră că invadarea organismului de către celulele tumorale provoacă două tipuri de reacții:

a) răspuns nespecific, bazat mai cu seamă pe stimularea sistemului macrofagic;

b) un răspuns specific, îndreptat împotriva antigenelor tumorale. S-a demonstrat că limfoganglionii regionali sînt sediul unei bogate activități imunologice cu rol important în dezvoltarea reacțiilor antitumorale, cel puțin în fazele incipiente ale bolii (Baldwin, 1978; Fisher și Fisher, 1967, 1971; Mitchell, 1978).

Sistematizarea datelor din literatură evidențiază următoarele tipuri de modificări reactive limfoganglionare:

a) predominanța limfocitară — creșterea numărului de limfocite în zonele corticale, paracortice și medulare. După cum se știe, zona paracorticală este populată cu limfocite T, răspunzătoare pentru reacțiile imune mediate celular;

b) predominanța centrilor germinali, populați în mod esențial cu precursori ai plasmocitelor răspunzătoare pentru reacții imune de tip umoral;

c) histiocitoză sinusală bazată pe proliferarea histiocitelor (macrofagelor) în sinusurile ganglionare;

d) limfoganglion nestimulat în care centrii germinali nu sînt proeminenți, zona paracorticală este săracă în limfocite, iar sinusurile medulare goale;

e) depleție limfocitară, bine exprimată în toate zonele ganglionare. De la caz la caz, pot fi remarcate procese de fibroză și modificări degenerative.

Pe baza modificărilor descrise anterior, limfoganglionii pot fi grupați în:

a) ganglioni în care se dezvoltă un mediu nefavorabil proliferării celulelor canceroase. Aceștia prezintă o cantitate crescută de limfocite T și macro-

fage, hiperplazia centrilor germinali, asociată cu o producere crescută de anticorpi. Cantitatea mai mare de anticorpi poate să indice însă fie o citotoxicitate umorală, fie o mascare necitotoxică a celulelor tumorale;

b) ganglionii cu depleție limfocitară exprimată. Aceștia ar putea să constituie un mediu favorabil pentru proliferarea celulelor tumorale;

c) la rîndul lor, limfoganglionii de aspect normal ar indica următoarele posibilități:

— lipsa de reacție față de celulele tumorale din cauza slabei lor antigenicități;

— existența unui număr redus de celule tumorale și fără capacități proliferative sau metastazante;

— neinvadarea cu celule tumorale a ganglionului examinat;

— completa regresie a metastazelor (Weiss, 1980).

Este firesc ca datele încă insuficiente de care dispunem și care sînt bazate mai ales pe aspectele morfologice sau pe rezultate experimentale, să stîrnească întrebări și controverse.

Una din problemele de reală importanță practică este legată de atitudinea față de limfoganglionii regionali în timpul actului chirurgical.

Conduita chirurgicală clasică la care aderă și Institutul Oncologic Cluj, se bazează pe rezecția în bloc a tumorii primare, împreună cu limfoganglionii regionali.

De exemplu, în cancerul mamar, din diferite procedee chirurgicale folosite, s-a optat pentru operația tip Patey, deoarece oferă o eficiență crescută în limfadenectomia axilară, precum și un grad redus de mutilare.

În 1965, bazîndu-se pe numeroase cazuri de cancere mamare și pe propriile studii experimentale, Crile încearcă să promoveze ideea de mastectomie simplă la toate cazurile cu tumori mamare depistate în stadii precoce. Autorul afirmă că dacă imunitatea antitumorală față de cancere de dimensiuni mici ia naștere în mare parte în ganglionii regionali, atunci aceste cancere ar trebui tratate protejînd ganglionii. Numai în cancere de dimensiuni mari ganglionii pot fi îndepărtați fără consecințe.

Hammond și Rolley (1970), Pilch și colab. (1971), Fisher și Fisher (1971, 1972) consideră că ganglionii limfatici regionali sînt sediul principal de inițiere a răspunsului imun, dar nu sînt singurii răspunzători de acest răspuns.

Pentru Griffiths (1970) însă, nu există nici un raționament imunologic pentru păstrarea ganglionilor regionali clinic neinvadați, iar Hall și colab. (1972) atrag atenția asupra dificultăților de a detecta histologic prezența micrometastazelor și asupra riscului neîndepărtării ganglionilor așa zisi „îndemni”.

În ciuda acestor contradicții, bazați pe achizițiile imunologiei moderne, este greu de acceptat că limfocitul imun nu va reacționa față de celulele canceroase a căror antigenicitate este modificată. Intensitatea și eficiența reacțiilor vor depinde însă de proprietățile intrinseci ale celulelor tumorale și de posibilitățile de a reacționa de care dispune fiecare organism în parte.

Sintetizarea cunoștințelor actuale asupra procesului de metastazare pe cale limfatică evidențiază aspecte de real interes:

a) ganglionul acționează ca o barieră provizorie față de fluxul de celule canceroase din circulația limfatică. Aceasta reprezintă mai ales o barieră imunologică și nu una mecanică (Fisher și Fisher, 1967, 1972; Israel, 1978; Mitchell, 1978);

b) capacitatea ganglionului de a limita extensiunea procesului canceros este incompletă;

c) dacă ganglionul este capabil la început să reacționeze împotriva celulelor tumorale, această capacitate este mai curînd sau mai tîrziu depășită și ganglionul devine el însuși o stație de difuziune.

7.4.

Metastazarea pe cale sangvină

Ideile clasice susțin că celulele desprinse din tumoarea primară, în cele mai multe cazuri trec în circulația sangvină și se opresc la diferite niveluri, unde se nidează și se multiplică, constituind tumori secundare. Oprirea celulelor se datorește diminuării calibrului vascular, iar organele cele mai afectate sînt cele cu o bogată rețea vasculară de tip capilar (plămîn, ficat) (Costăchel și Bunesu, 1961).

Constituirea metastazelor ca urmare a diseminării celulelor tumorale pe cale sangvină se petrece în următoarele etape:

- 1) pătrunderea celulelor în sistemul circulator (intravazarea);
- 2) faza de citemie canceroasă;
- 3) oprirea embolilor tumorali în capilarele sangvine, în organe la distanță;
- 4) extravazarea celulelor tumorale în parenchimul organului-sediu;
- 5) inducerea stromei vasculare și constituirea unor tumori secundare cu creștere autonomă;
- 6) celulele desprinse din tumorile secundare pot să reia toate etapele cascadei metastatice și să determine formarea de metastaze din metastaze.

7.4.1.

Pătrunderea celulelor tumorale în sistemul circulator (intravazarea)

Datorită creșterii lor infiltrativ-invazive, tumorile maligne au capacitatea de a pătrunde în vase, fie prin efracție, fie prin traversarea pereților vasculari. În marea majoritate a cazurilor pătrunderea se face în venele mici.

În dezvoltarea metastazelor un rol important îl joacă calibrul venelor. Invadarea capilarelor venoase este un fenomen obișnuit și reprezintă un rezultat al creșterii de tip invaziv, cu consecințe în diseminarea peritumorală. Invadarea venelor mari reprezintă fără îndoială calea prin care se fac diseminări la distanță (Willis, 1973). Pereții arteriali, datorită structurii lor mai rezistente, la care se adaugă și presiunea crescută din interiorul vaselor, reprezintă o barieră solidă în calea invaziei tumorale.

Celulele tumorale din ariile periferice sînt bine oxigenate, datorită vascularizației intense din aceste zone. Determinînd indicele de marcare, Tannock și Steel (1969) au demonstrat că aceste celule au o activitate proliferativă mult mai mare decît cele din ariile tumorale centrale. Pe de altă parte, Weiss (1977) constată o bună corelație între rata de proliferare celulară și între desprinderea celulelor din tumoarea primară. Aceste atribute, asociate capacității de locomoție a celulelor tumorale, precum și activității histolitice și collagenolitice pe care o dețin, explică în mare măsură proprietatea lor de a invada țesuturile gazdei. Procesul de pătrundere a celulelor tumorale în sistemul limfatic și/sau sangvin

s-ar face deci prin celulele din zonele periferice tumorale, a căror viabilitate și capacitate invazivă este maximă.

Pe lângă posibilitățile de pătrundere directă în arborele circulator, celulele tumorale pot să ajungă în sânge și indirect, prin intermediul circulației limfatice.

După pătrunderea în vase, celulele tumorale pot fi transportate pasiv prin sistemul circulator sau pot să prolifereze la locul de invazie. În mod frecvent se poate constitui un tromb în jurul celulelor în proliferare activă. Numeroși cercetători au constatat o relație directă între potențialul de proliferare al celulelor tumorale și formarea de fibrină. Această proprietate s-a dovedit valabilă pentru tumorile cu activitate tromboplastică intrinsecă, activitate care însă nu caracterizează toate tipurile tumorale (O'Meara, 1958). Odată trombul format, din acesta se vor desprinde mici emboli care vor migra la distanță. Procesul de embolizare prin celule tumorale este mai probabil un proces continuu și este responsabil pentru constituirea citemiei canceroase.

7.4.2.

Citemia canceroasă

Cifrele referitoare la incidența celulelor tumorale în sânge, variază de la autor la autor, de la 1,5% până la 100% din cazurile cu tumori maligne (Dargent și Faucon, 1965; Goldblatt și Nadel, 1965; Meisels și Dubreuil-Charrois, 1965).

Incidența celulelor tumorale este semnificativ mai mare în sângele regional. Roberts și colab. (1962) constată că în timp ce în sângele periferic celulele tumorale sînt izolate, în sângele regional acestea se găsesc mai frecvent în grupuri.

Identificarea celulelor tumorale în sânge este dificilă și în dependență de:
a) cantitatea de celule; b) locul de recoltare a sîngelui (regional sau periferic);
c) durata fazei citemice; d) tehnica de evidențiere etc.

În ceea ce privește durata fazei citemice, Roberts și colab. (1962) constată pe probe de sânge recoltate intraoperator că celulele tumorale dispar rapid după extirparea tumorii. Studiile experimentale aduc date contradictorii. Madden (1962) constată că după 10 minute de la injectarea intravenoasă, celulele tumorale nu mai sînt evidențiabile în probele de sânge. La rezultate similare ajung și Hengesch și colab. (1962), Stevenson și Haam (1966); în schimb, Agostino și Clifton (1965) le evidențiază și la 4 ore după inoculare, iar Dobrossy (1969) constată o incidență maximă la 1—3 ore după inoculare.

7.4.3.

Oprirea embolilor tumorali în capilarele sangvine în organe la distanță

Vehiculați de curentul sangvin, embolii tumorali se vor opri cel mai adesea în organele-filtru, organe bogate în rețele vasculare de tip capilar. Cele mai importante filtre sînt rețelele capilare din plămîn și ficat.

Experimental s-a demonstrat că în timpul transportului prin rețeaua vasculară, celulele tumorale sînt supuse, unor influențe și interacțiuni cu următoarele categorii de factori: alte celule tumorale, elementele figurate ale sîngelui și celulele endoteliului vascular.

Ca urmare a acestor influențe, celulele tumorale pot adera la alte celule tumorale, circulante și să formeze agregate homotipice (fig. 7.9). De cele mai multe ori însă, celulele tumorale constituie agregate mixte prin aderarea unor

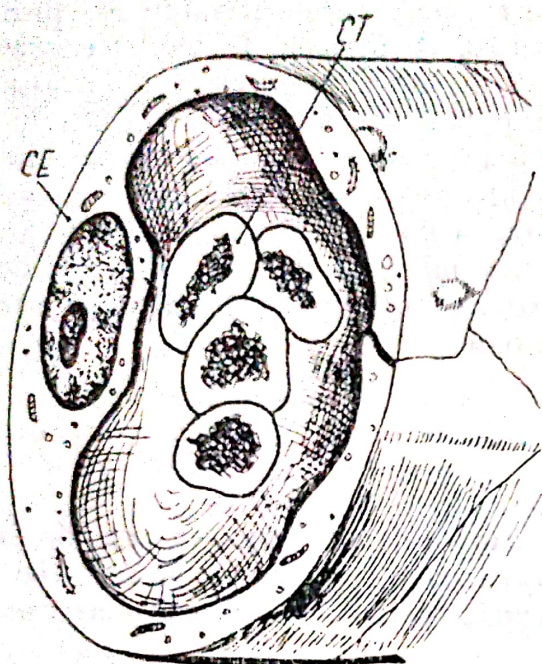


Fig. 7.9. — Reprezentarea schematică a agregării homotipice de celule tumorale în lumenul capilarului. CE = celulă endotelială; CT = celule tumorale.

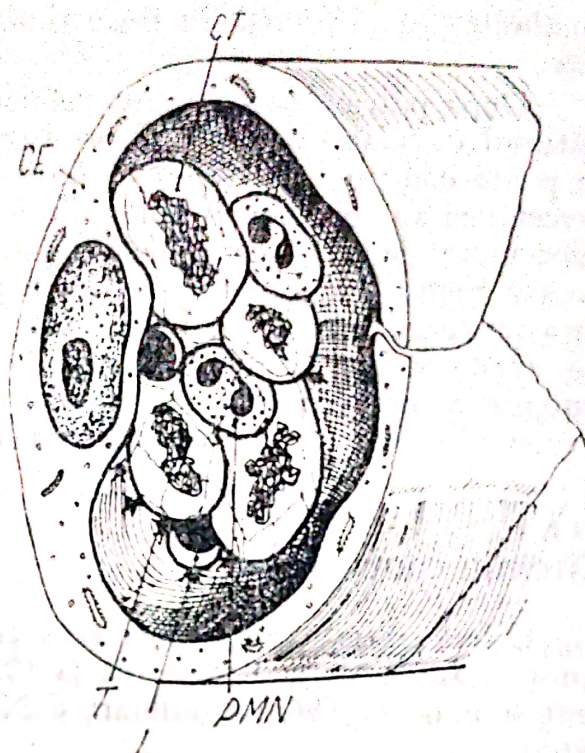


Fig. 7.10. — Reprezentarea schematică a agregării heterotipice în lumenul capilarului.

CE = celulă endotelială; CT = celule tumorale; PMN = polimorfonucleare; L = limfocite; T = trombocite.

elemente figurate din sânge și prin atașare la endoteliul capilar (agregate heterotipice) (Fidler, 1974; Fidler și colab. 1978; Gasic și colab. 1973; Warren, 1973; 1981) (Fig. 7.10 și 7.11).

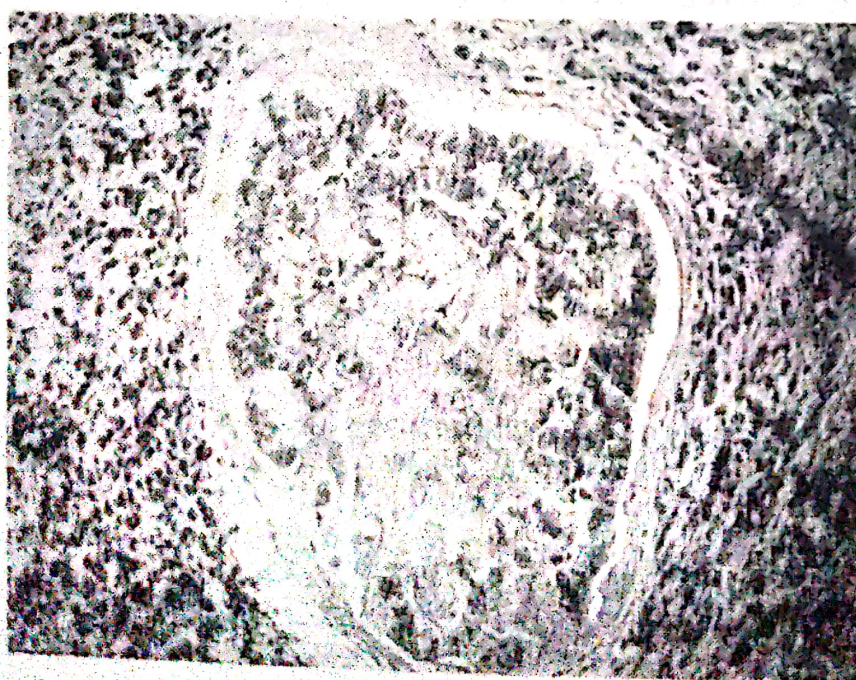
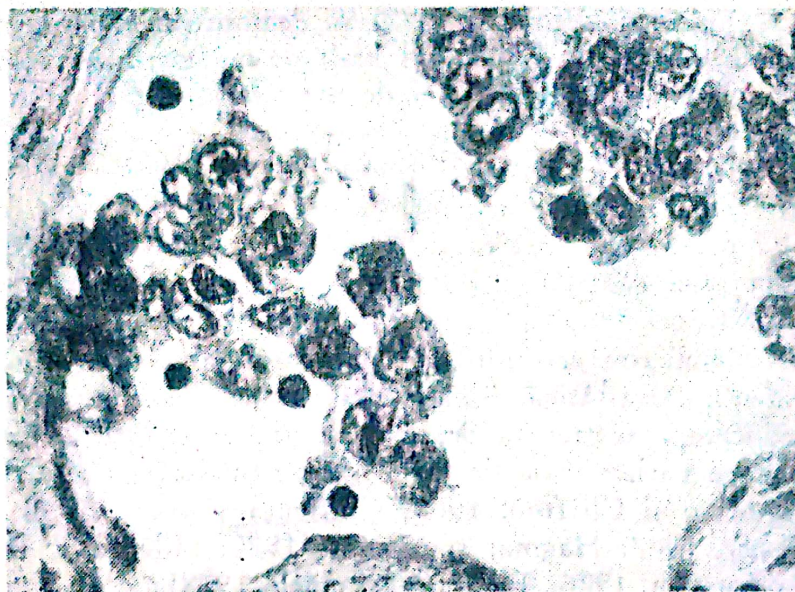


Fig. 7.11. — Tromb tumoral obliterant cu bogată depunere de fibrină (col. H.E., x70)

Fig. 7.12. — Agregate heterotipice în lumenul vasului. (col. H.E. $\times 140$)



În interacțiunile celulare un rol important îl joacă proprietățile fizico-chimice ale membranelor și anume sarcinile electrice negative legate de resturile de aminoacizi. Potențialul electric negativ al suprafețelor celulare tinde să îndepărteze celulele unele de altele. La acest nivel acționează însă și forțele de coeziune Van der Waals, invers proporționale cu distanța care separă două celule. Acești factori acționează antagonic, având ca rezultat un echilibru, puternic influențat de condițiile de mediu, determinând fie aderență, fie dislocare.

Unele celule tumorale posedă o activitate tromboplastică și induc formarea unei rețele de fibrină la scurt timp după oprirea în patul capilar (fig. 7.12), Agostino și colab. 1962; Baserga și Saffioti, 1955; Hagmar și Norrby, 1970; Warren și colab. 1977; Warren, 1981).

Date fiind multiplele interacțiuni și influențe pe care le suferă celulele tumorale circulante, este ușor de înțeles că simpla prezență a acestora în sângele periferic nu înseamnă în mod obligatoriu metastază. S-a demonstrat experimental că embolii constituiți din mai multe celule tumorale dau incidențe crescute de focare metastatice.

În anul 1958, prin studii de microcinematografie Wood demonstrează experimental etapele succesive ale dezvoltării unui focar tumoral secundar, *in vivo*. Celule de carcinom VX₂ au fost injectate în artera centrală a urechii. S-a remarcat că numai o parte (o subpopulație) din celule aderă la endoteliu. La 20 de minute după oprirea lor, celulele se înconjură de o rețea de fibrină și se înglobează într-un microcoagul fibrino-trombocitar. Apar apoi leziuni subiacente trombului; leucocitele străbat endoteliul lezat, urmate imediat de celulele tumorale.

În decurs de 3 zile se constituie un focar tumoral cu microcapilare și stromă.

Procesul de alipire a celulelor tumorale la endoteliul capilar este un moment esențial în dezvoltarea metastazelor și depinde de numeroși factori: dimensiunea embolilor tumorali, viabilitatea celulelor tumorale, proprietățile de membrană, deformabilitate și mobilitate celulară, interacțiuni cu celulele normale ale gazdei, factori de coagulare, prostaglandine etc.

Fidler și Nicolson (1977) au demonstrat experimental că subpopulațiile de celule tumorale cu potențial înalt de metastazare au și o mare capacitate de a agrega între ele, precum și de a forma agregate cu trombocitele și limfocitele gazdei.

În ceea ce privește formarea microtrombilor vasculari, aceștia iau naștere, în primul rând datorită activității tromboplastice a celulelor tumorale. Pe de altă parte, prin lezarea endoteliului la locul de oprire a celulelor tumorale, se eliberează cantități infime de tromboplastină tisulară activă, capabilă să inducă transformarea fibrinogenului în fibrină.

Numeroși cercetători au studiat relația dintre factorii de coagulare și incidența metastatică. S-au efectuat studii sistematice asupra posibilităților de reducere a acestei incidențe prin utilizarea anticoagulantelor. Rezultatele terapeutice variază însă de la un sistem tumoral la altul (Agostino și colab. 1962; Agostino și Clifton, 1965; Chiricuță și colab. 1979; Elias, 1974; Fisher și Fisher, 1967; Hagmar și Norrby, 1970; Hilgard și Thornes, 1976; Ivarsson și Rudenstam, 1976; Todoruțiu și colab. 1978).

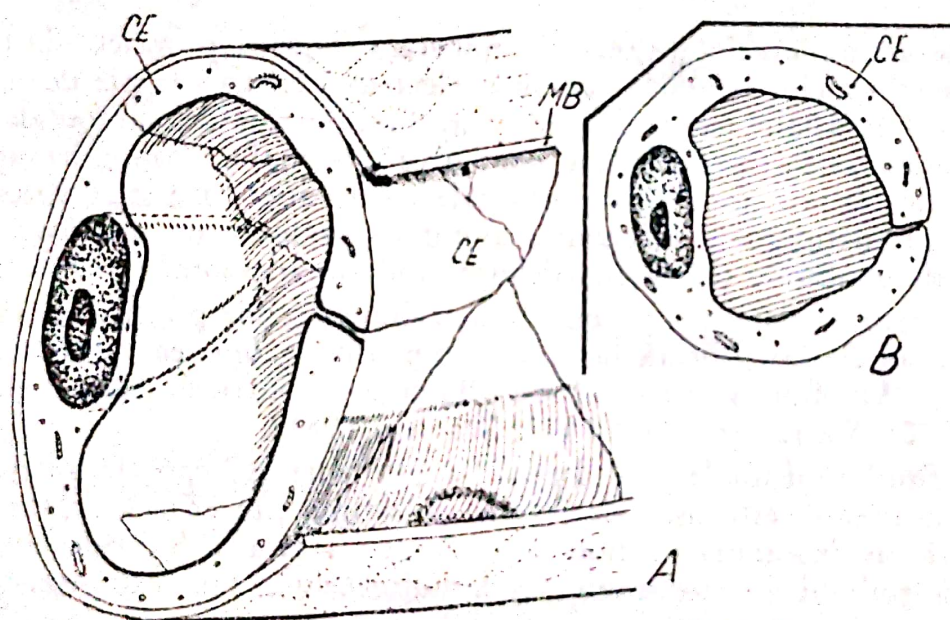


Fig. 7.13. — Reprezentarea schematică a capilarului cu endoteliu nefenestrat.

A — Secțiune longitudinală; B — Secțiune transversală; CE — Celulă endotelială; MB — membrană.

Celulele tumorale pot adera ferm la peretele vasului dacă endoteliul este lezat sau prezintă lacune. Bennett și colab. (1959) consideră că în funcție de structură, există 3 tipuri de endoteliu capilar. Primul este format din endoteliu continuu, nefenestrat, cum este cel din mușchiul cardiac, din mușchii scheletici și din plămân (fig. 7.13). Al doilea tip, conține fenestrații intracelulare, cum este în rinichi, intestin, stomac și în multe glande endocrine (fig. 7.14). Al treilea tip de capilare se caracterizează printr-un strat endotelial cu lacune largi și numeroase printre celulele parenchimatoase, cum este de exemplu în ficat, splină și măduva oaselor. Warren (1973, 1977, 1981) consideră că aceste desbiri structurale joacă un rol important în aderarea embolilor circulanți la peretele vascular.

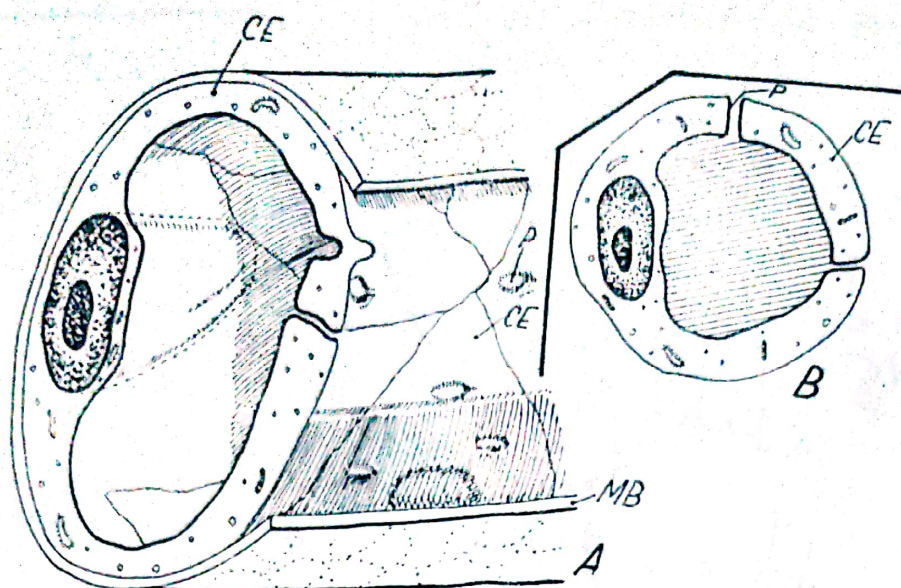


Fig. 7.14. — Reprezentarea schematică a capilarului cu endoteliu fenestrat.

A — Secțiune longitudinală; B — Secțiune transversală; CE — celulă endoteliială; MB — membrană bazală; P — por.

7.4.4.

Invadarea și traversarea pereților capilari (extravazarea)

Procesul de extravazare, studiat de Wood (1964) *in vivo*, prin microcinematografie, demonstrează că migrarea transendoteliială a subpopulației de celule tumorale aderente la endoteliu apare foarte timpuriu și anume la 18 ore după localizarea inițială.

Pe baza studiilor morfologice și de microscopie electronică, pentru extravazare s-au emis următoarele ipoteze:

a — prin migrare activă, similară diapedezei leucocitelor, se emite un pseudopod care se insinuează în spațiile lacunare dintre celulele endoteliale. Celulele tumorale trec astfel în spațiul extravascular printr-un singur punct de ieșire, fără să lezeze peretele vasului (fig. 7.15);

b — prin comprimarea endoteliului vascular datorită emiterii a numeroase pseudopode în diferite puncte se produc leziuni în endoteliu și membrana bazală, ducând în cele din urmă la ruperea pereților vasculari (Chew și colab., 1976) (fig. 7.16);

c — prin creșterea intraluminală a embolului tumoral oprit, se ajunge la distrugerea pereților vasculari și invadarea spațiilor extravasculare (fig. 7.17).

Nu toți embolii tumorali opriți vor dezvolta metastaze. Prin distrugerea unor celule tumorale s-ar putea însă elibera substanțe proteice care difuzează în parenchim și care ar juca un rol de factori chemotactici pentru noi emboli tumorali viabili (Fidler și colab., 1978). În plus, orice factori care măresc permeabilitatea vasculară pot intensifica extravazarea tumorală.

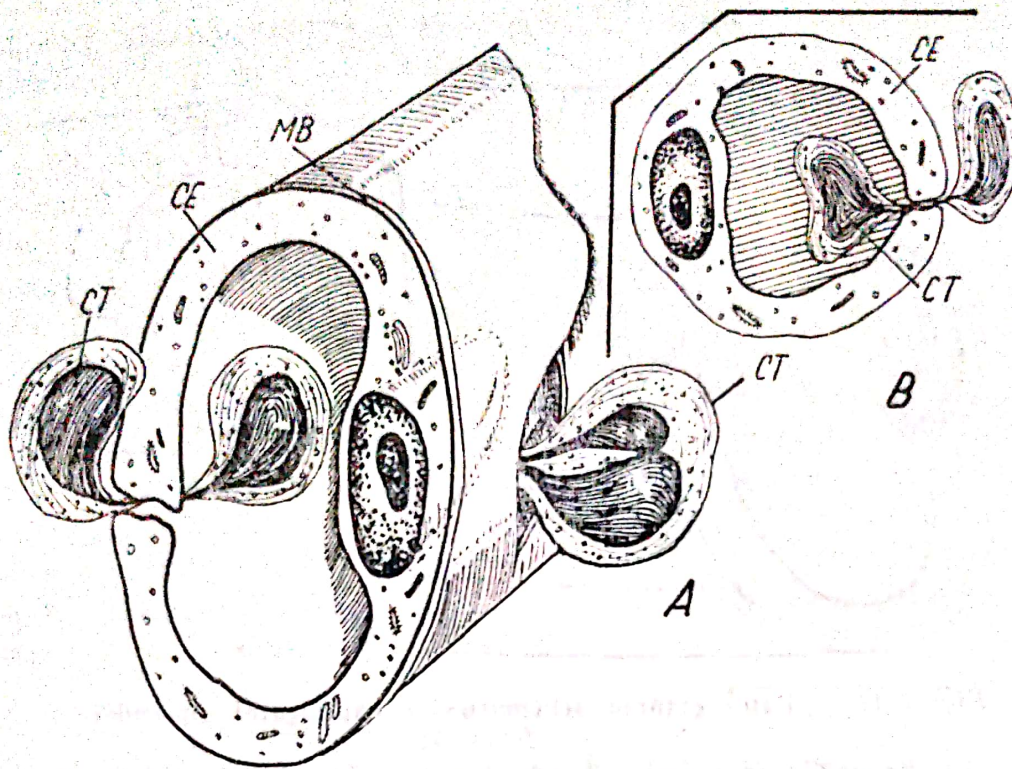


Fig. 7.15. — Extravazarea celulelor tumorale prin diapedeză.
A — Secțiune longitudinală. B — Secțiune transversală. CE — Celulă endotelială; MB — membrană bazală; CT — Celulă tumorală.

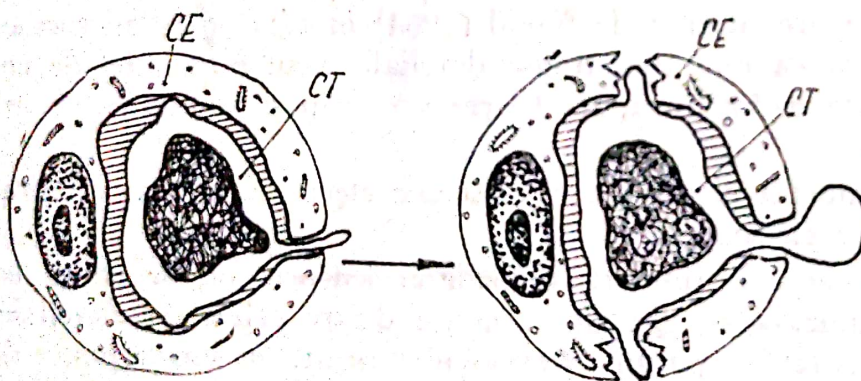


Fig. 7.16. — Extravazarea celulelor tumorale prin ruperea pereților capilari.
CE — celulă endotelială; CT — celulă tumorală.

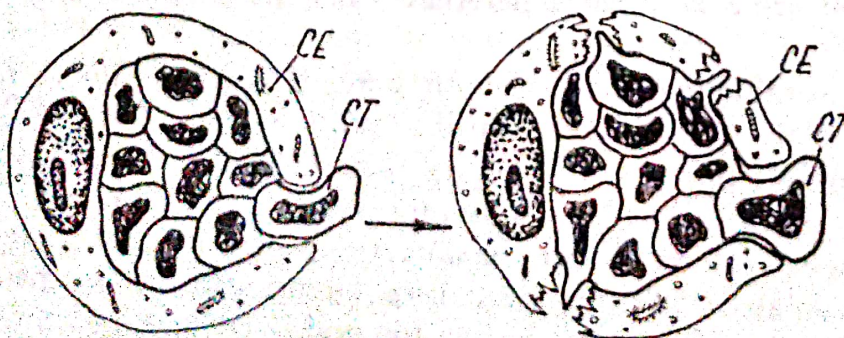


Fig. 7.17. — Extravazarea celulelor tumorale prin înmulțire intraluminală, urmată de ruperea pereților capilari.
CE — celulă endotelială; CT — celule tumorale.

Pe de altă parte, constituirea unui focar metastatic depinde, pe lângă capacitățile proliferative ale celulelor tumorale, și de reacțiile pe care aceste celule le suscită din partea gazdei. Interrelația dintre proprietățile celulelor tumorale și capacitățile reacționale ale gazdei vor determina următoarele posibilități:

- proliferare și constituire de focare metastatice cu creștere autonomă;
- focare metastatice în stare „dormant”;
- moarte celulară.

În plus, poziția extravasculară a celulelor tumorale nu exclude posibilitatea recirculării acestora. În 1966, Fisher și Fisher elaborează o concepție unificată asupra diseminării celulelor tumorale. Conform observațiilor lor experimentale, celulele tumorale din spațiile interstițiale pot pătrunde în capilarele limfatice, iar de aici în ganglioni și din nou în circulația sangvină. În consecință, cele 2 sisteme vasculare pot fi atât de unite, încât nu mai pot fi privite drept căi independente de diseminare.

7.4.5.

Inducerea stromei vasculare și construirea unei tumori secundare cu creștere autonomă

Utilizând celule de carcinom VX2, studiile de microcinematografie au relevat că după 18 ore de la ajungerea celulelor tumorale în spațiile extravasculare apar capilare de neoformație. Acestea au ca punct de plecare venulele postcapilare ale organului, iar creșterea este orientată spre focarul tumoral (Wood, 1971). Celulele tumorale au capacitatea de a elabora factorul de angiogeneză tumorală cu acțiune de stimulare a proliferării endoteliale. Treptat se constituie un proces de neovascularizare prin formare de ramuri centrifuge față de arborele vascular al gazdei și cu numeroase conexiuni, ce pătrund adânc în masa tumorală (Warren și Shubik, 1966).

Microscopic, în tumori se descriu 3 tipuri de vase:

- a) vase cu pereți subțiri, dezvoltate din mugurii capilari și delimitate de endoteliu așezat pe o membrană bazală;
- b) canale sau spații largi, delimitate chiar de celulele tumorale, cu rare celule endoteliale izolate;
- c) vase mature ale țesuturilor gazdei, încorporate de tumoare.

Proporția acestor tipuri vasculare variază de la o tumoare la alta, în funcție de tipul histologic, localizare etc. și va influența în mare măsură comportamentul diferențiat al tumorilor maligne (Weiss, 1977).

7.4.6.

Focarele metastatice în stare „dormant”

În studiile asupra biologiei metastazelor, un interes deosebit l-a suscitată posibilitatea persistenței latente a unor focare metastatice și a reactivării lor ulterioare. Pentru definirea acestei stări, Hadfield (cit. de Fisher, 1967), utilizează sugestivă expresie de „celulă canceroasă adormită” („dormant cancer cell”).

Focarele tumorale „*dormant*” reprezintă grupuri de celule canceroase, aparent neproliferative pentru o foarte lungă perioadă de timp. Sub influența anumitor factori, aceste focare pot să-și înceapă proliferarea activă. Mecanismele prin care celulele tumorale rămân în această stare „*dormant*”, dar viabile și capabile să-și manifeste ulterior potențialul proliferativ, sînt încă neclare. Este posibil ca această populație celulară să fie în Go și totodată protejată față de mecanismele de detectare și apărare ale organismului (Fidler și colab. 1978).

O altă alternativă ar fi echilibrul dintre numărul de celule în permanentă proliferare și numărul de celule în permanentă distrucție.

Pentru Folkman (1976) cheia stării „*dormant*” o constituie lipsa de vascularizație a focarului tumoral, iar evenimentul decisiv care convertește masa de celule tumorale aberante, dar liniștite, într-o tumoare cu creștere rapidă, invazivă, este vascularizația.

7.4.7.

Metastazarea metastazelor

Procesul a fost demonstrat experimental pe animale în parabioză (Hoover și Ketcham, 1975). După extirparea tumorii primare a șoarecilor purtători de metastaze pulmonare, aceștia au fost legați în parabioză cu animale singenice normale. S-a constatat apariția de metastaze pulmonare la parabiontul normal. Aceasta dovedește că procesul de invadare a vaselor, de embolizare, oprire, extravazare și dezvoltare poate să reînceapă, constituindu-se metastaze din metastaze.

Potențialul metastatic al celulelor provenite din metastaze, a fost demonstrat și în numeroase tumori umane: melanoame, osteosarcoame, carcinoame pulmonare, rabdomiosarcoame etc.

7.5.

Relațiile tumoare-gază în evoluția metastazelor

Malignitatea unei tumori depinde de un complex de factori care implică pe de o parte celula canceroasă cu toate caracterele ei, iar pe de altă parte rezistența pe care organismul gazdă o opune dezvoltării și progresiunii tumorale.

Încă din 1889, Paget a remarcat discrepanța dintre frecvența mare a metastazelor în unele organe și incidența lor scăzută în altele. Reluînd vechea idee a lui Paget, Boyd (1974) afirmă că „solul este tot atît de important ca sămînța”, cu alte cuvinte, soarta celulelor tumorale va depinde în mare măsură de terenul pe care evoluează procesul.

Mecanismele de apărare care caracterizează terenul biologic sînt dependente de numeroși factori cum ar fi: capacitățile reactive imune, echilibrul hormonal, vascularizația, factorii de coagulare, sexul, vîrsta etc.

Observațiile clinice aduc unele dovezi asupra existenței unor reacții de apărare eficiente în calea progresiunii tumorale: a) regresii spontane ale unor tumori; b) regresiunea, în unele cazuri, a metastazelor după îndepărtarea tumorii primare; c) existența unei citemii canceroase fără constituirea ulterioară de focare metastatice; d) incidențe tumorale crescute la bolnavii supuși unor

tratamente imunosupresive de lungă durată sau la cei cu deficiențe imune ereditare etc.

La ora actuală se consideră că invadarea organismului de către celulele tumorale provoacă două tipuri de reacții: *a)* un răspuns imunologic nespecific, bazat în primul rând pe stimularea sistemului macrofagic și *b)* un răspuns imun specific, îndreptat împotriva antigenelor tumorale.

În evoluția spontană a bolii canceroase se observă două etape distincte; o fază locală, neinvazivă, nemetastazantă (care poate dura câțiva ani), urmată de o fază invazivă, metastazantă. Aceste observații permit conturarea a două momente de criză în mecanismele de apărare: primul, în timpul cancerogenezei, permițând apariția tumorii primare, iar al doilea, în desfășurarea bolii, permițând generalizarea ei prin metastazare.

Sistematizarea datelor referitoare la faza de generalizare a bolii canceroase evidențiază următoarele aspecte:

a) momentul desprinderii și migrării celulelor tumorale nu depinde de momentul în care tumoarea primară a devenit perceptibilă clinic;

b) citemia canceroasă poate să se instaleze direct prin străbaterea pereților vasculari de către celulele tumorale, sau indirect, prin intermediul circulației limfatice;

c) cantitatea de celule tumorale circulante nu reflectă numărul focarelor metastatice ulterioare; embolii tumorale reprezintă doar metastaze potențiale;

d) în fiecare etapă din lanțul de fenomene participante la „cascada metastatică” survin interacțiuni dinamice între proprietățile intrinseci ale celulelor

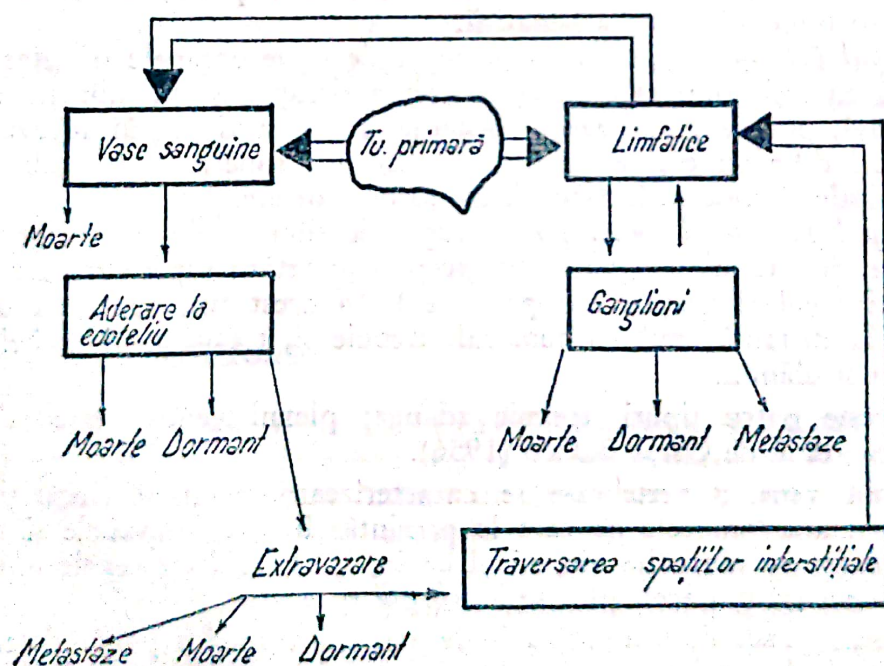


Fig. 7.18. — O concepție unificată asupra diseminării celulelor tumorale (Fisher, 1966 b).

tumorale și reacțiile gazdei. Soarta celulelor tumorale va depinde deci de relațiile dintre viabilitatea celulară și intensitatea reacțiilor de apărare. În istoria naturală a cancerelor funcționează legea „supraviețuirii celui mai puternic”. (fig. 7.18).

Căile vasculare de metastazare

Embolii tumorali de dimensiuni prea mari pentru a traversa vasele capilare se opresc în primul sistem arteriolar sau capilar întâlnit. Embolii din sistemul venos sau din trunchiurile limfatice principale sînt transportați spre plămîn, cei din sistemul venelor porte, spre ficat, cei eliberați din plămîni în venele pulmonare sau în inima stîngă pot fi transportați în orice organ periferic (Willis, 1973).

Pe baza legilor hemodinamicii și în funcție de sediul tumorii primare în raport cu organele filtru, Walther (citată de Willis, 1973) stabilește 4 posibilități generale de metastazare. Prin filtru sangvin Walther înțelege rețelele capilare ale plămînului și ficatului, prin care trebuie să treacă întreaga masă sangvină. (Costăchel și Bunesco, 1961).

Cele 4 tipuri generale de metastazare sînt:

a) *Tipul I — pulmonar*: tumoarea primară este situată în plămîn sau pleură. Diseminarea se face centrifug, pe cale arterială. Metastazele hepatice se produc prin artera hepatică. Prin invadarea unei ramuri a venelor pulmonare, celulele trec în inima stîngă și prin circulația mare, în teritorii la distanță. Dacă tumoarea invadează venele bronșice, celulele tumorale ajung în inima dreaptă și prin circulația mică din nou în plămîn. Se realizează astfel o metastază pulmonară provenită dintr-o tumoare pulmonară primară.

b) *Tipul II — hepatic*: tumoarea primară este situată în ficat. Prin invadarea venelor hepatice, celulele trec în vena cavă și apoi în inima dreaptă și plămîn. Cînd celulele invadează ramificații ale venei porte, se realizează metastaze dintr-o tumoare primară hepatică.

c) *Tipul III — al venelor cave*: cuprinde toate organele tributare acestor vene. Toți embolii tumorali ajung în inima dreaptă și plămîn de unde, pe cale arterială, pot da metastaze la distanță. În acest tip se încadrează tumori cu localizări diferite: căi respiratorii și digestive superioare, glandă mamară, organe genitale, glande endocrine, sistem locomotor etc.

d) *Tipul IV — al venei porte*: cuprinde tumori ale organelor tributare venei porte, deci tubului digestiv, cu excepția jumătății superioare a esofagului, splina, peritoneul și spațiul retroperitoneal. În acest tip, pentru a determina metastaze la distanță, embolii tumorali trebuie să treacă prin ambele organe filtru: ficat și plămîn.

La aceste patru tipuri, trebuie adăugat plexul venos vertebral, descris pentru prima dată de Oscar Batson (1956).

Sistemul venelor vertebrale se caracterizează printr-o circulație foarte lentă și prin anastomozele pe care le prezintă: în sus, cu venele și sinusurile craniene, în jos cu plexurile din micul bazin, iar lateral cu venele intercostale. Circulația venoasă din acest plex se îndreaptă spre cave.

Creșterea presiunii intraabdominale sau intratoracice poate determina la nivelul acestui plex, orientarea circulației sîngelui în sens retrograd, de exemplu spre craniu. Astfel se pot explica metastazele din regiunea cervicală a coloanei vertebrale sau metastazele craniene în cazul unor carcinoame de prostată (Del Regato, 1977) (fig. 7.19).

Pentru o mai bună înțelegere a unor metastaze cu topografie neobișnuită, amintim și următoarele anastomoze:

— ale venelor cave între ele (prin vena epigastrică și mamară internă);

— porto-cave (prin vena paraombilicală, plexul rectal și vena coronară a stomacului).

În plus, în concepția lui Willis (1973) este necesară o mențiune specială a unor posibilități neobișnuite de circulație a embolilor tumorali și anume: a) embolismul paradoxal; b) embolismul venos retrograd; c) pasajul transpulmonar al celulelor tumorale.

a. Embolismul paradoxal survine prin embolii tumorali circulanți din sistemul venos, care datorită persistenței *foramen ovale* ocolesc plămînul și trec în circulația arterială.

b. Embolismul retrograd are loc în 2 circumstanțe:

— prin obstruarea unei vene și deschiderea unor colaterale în care circulația se va face în sens opus sensului normal și

— în venele mari ale toracelui și în tributarele ei principale poate să se instaleze o circulație retrogradă tranzitorie, determinată de o creștere bruscă a presiunii intratoracice (tuse violentă, vărsături).

c. Trecerea transpulmonară se face prin celule tumorale izolate care, datorită plasticității lor, pot traversa șunturile arteriolo-venoase din plămîn și să se răspîndească pe calea circulației generale.

Aceste ultime trei posibilități, potrivit părerii lui Willis (1973), sînt extrem de rar întîlnite în clinica umană.

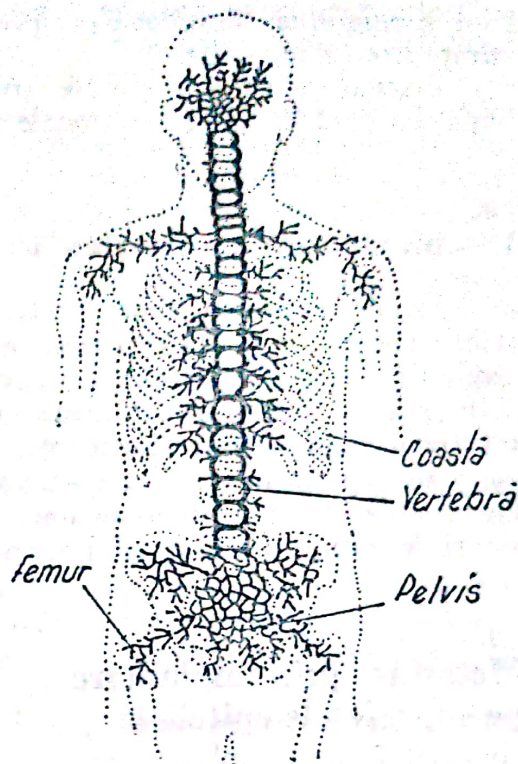


Fig. 7.19. — Plexul venos vertebral al Batson (Del Regato, 1977).

7.7.

Metastazarea în seroase

Eliberarea celulelor tumorale în cavitățile seroase (peritoneu, pleură, pericard) și implantarea lor în aceste regiuni cu constituirea de focare metastatice constituie un proces frecvent întîlnit în clinica umană, fiind calea principală în determinarea carcinomatozei seroaselor.

Acest mod de diseminare este caracteristic pentru carcinomul papilifer al ovarului, pseudomixomul apendicular, tumorile pulmonare sau mediastinale cu creștere spre cavitatea pleurală etc. Implantările pericardice sînt evenimente mai rare.

Constituirea metastazelor în seroase este însoțită de colecție lichidiană, cel mai frecvent exsudat sangvinolent, care conține celule tumorale.

Implantarea celulelor tumorale în seroase determină leziuni ale celulelor mezoteliale și se însoțesc de reacții de tip inflamator în subseroasă. Ca rezultat al acestor modificări apar depozite de fibrină, vase de neoformație, pre-

cum și migrarea fibroblastelor, procese care determină constituirea unei adevărate strome tumorale.

Fixarea celulelor tumorale are loc mai ales în regiunile declive, distribuție datorată forței gravitaționale (Willis, 1973).

7.8.

Diseminarea cerebro-spinală

Tumorile sistemului nervos central sînt limitate în posibilitățile lor de a stabili metastaze limfatice sau sangvine. Tumorile cu creșterea spre ventriculii cerebrali pot să elibereze celule care vor fi transportate de lichidul cefalo-rahidian spre cavitățile intracraniene în conexiune sau spre canalul rahidian. Purtate prin spațiile subarahnoidiene, celulele tumorale se autogrefează în unele zone ale leptomeningelui. Deși această formă de răspîndire este tipică pentru medulo-blastoame și ependimoame, ea poate fi de asemenea observată și la alte tipuri de tumori ale sistemului nervos (Del Regato, 1977).

7.9.

Metastaze prin implantare pe suprafețele epiteliale

În cazul tumorilor cutanate, acestea se mai numesc și metastaze de coliziune. Apar în urma unui contact îndelungat a unei porțiuni a epiteliului normal cu leziunea tumorală primară (de exemplu de la o buză la alta, de la limbă la mucoasa cavității bucale, de la cervix la vagin, de la un perete vaginal la altul etc.). Același mecanism de implantare poate genera și tumori ale epitelilor viscerale, la distanță de tumoarea primară. Celulele sînt transportate prin conductele naturale, cum ar fi cele de la căile respiratorii superioare spre plămîn, dintr-o parte a tubului digestiv la alta, de la ovar la uter via trompă, de la rinichi și ureter la vezică etc.

În această categorie a tumorilor de inoculare pot fi încadrate și tumorile secundare actului chirurgical. Asemenea situații pot să apară (și nu sînt situații rare) în chirurgia ovarului, uterului, stomacului, rectului etc. De obicei, tumorile secundare actului chirurgical apar pe liniile de sutură a peretelui abdominal, în punctele de paracenteză pentru ascitele carcinomatoase etc. (Willis, 1973).

7.10.

Studii experimentale asupra procesului de metastazare

În Institutul Oncologic Cluj-Napoca s-au efectuat studii asupra factorilor care pot influența evoluția metastazelor prin modificări induse în celulele tumorale și/sau modificări induse în organismul gazdă.

— *Rolul suprafețelor celulare* în aderarea celulelor tumorale circulante la endoteliul capilar.

În acest scop s-a studiat comparativ incidența metastazelor după injectarea intravenoasă a celulelor tumorale Walker 256, obținute prin disociere mecanică sau chimică (tripsină). Digestia triptică, deși nu afectează viabilitatea

celulară, reduce capacitatea adezivă a celulelor, acțiune exprimată printr-un indice de metastazăre foarte redus (16%) în comparație cu 64% în cazul celulelor disociate mecanic (Todoruțiu și Rîșcă, 1977).

— *Rolul sarcinilor electrice* de suprafață în aderarea celulelor la endoteliul capilar s-a studiat prin tratarea *in vitro* a celulelor tumorale cu substanțe tensioactive; laurilsulfat (substanță anionică), laurilamină (substanță cationică) și TWEEN-80 (substanță neionică). Rezultatele demonstrează potențarea diseminării tumorale prin tratarea celulelor cu toate cele trei substanțe. Aceasta s-ar datora mai curînd modificărilor de volum și tendinței de formare a unor aglomerări celulare, decît unor modificări ale sarcinilor electrice de suprafață (Chiricuță și colab., 1971; Todoruțiu și Rîșcă 1971).

— *Distribuția celulelor tumorale* și topografia localizării lor după injec-tare intravenoasă a fost studiată prin marcarea *in vitro* a celulelor Walker 256, cu trăsori radioactivi: ^{51}Cr , ^{75}Se -Met, ^{95}Nb . Rezultatele evidențiază rolul filtrelor capilare pulmonare și hepatice în distribuția și localizarea celulelor tu-morale (Chiricuță și colab., 1975).

Rolul organismului gazdă asupra apariției și evoluției metastazelor a fost studiat în diferite condiții experimentale; astfel, terenul biologic a fost studiat pe loturi de șobolani de sexe diferite și în condiții de graviditate, injectați intra-venos, cu celule tumorale Walker 256. Starea de graviditate crește atît inci-dența, cît și extensiunea metastazelor (Rîșcă, 1974).

De mare importanță practică sînt studiile în legătură cu influența unor factori cu acțiune terapeutică asupra evoluției metastazelor. Această temă de cercetare a pornit de la ideea că la un bolnav de cancer, supus unui complex de acțiuni terapeutice (iradiere, intervenție chirurgicală, chimioterapie), ar putea să se obțină o evoluție nefavorabilă a bolii, evoluție care să se dato-reze (cel puțin parțial) cumulării efectelor nocive ale fiecărui act terapeutic în parte.

În acest scop s-a studiat *rolul agresiunii actului chirurgical*, al narcozei și al perfuziilor cu glucoză 10%. Rezultatele demonstrează că intervenția chirur-gicală, starea de narcoză, precum și perfuziile cu glucoză utilizate în reani-marea postoperatorie determină o înaltă incidență metastatică și o largă dis-tribuție topografică a tumorilor secundare. Soluția de glucoză, injectată intra-venos în plină citemie canceroasă, exercită un efect trofic asupra celulelor tumorale circulante (Rîșcă și Todoruțiu, 1974) (fig. 7.20).

— *Rolul factorilor de coagulare* asupra aderării celulelor tumorale la endoteliul vascular a fost studiat prin utilizarea unor substanțe anticoagulante (heparină, trombostop). Rezultatele demonstrează că în sistemele noastre tu-morale, terapia anticoagulantă împiedică aderarea celulelor la endoteliul capilar și determină o scădere semnificativă a incidenței metastatice. (Chiricuță și colab. 1979; Todoruțiu și colab., 1978).

O preocupare majoră a constituit-o rolul capacităților reactive imune asupra evoluției metastazelor. Cercetările din acest domeniu au urmărit două obiective:

- a) studiul evoluției tumorale la animale în stare de imunodepresie;
- b) studiul evoluției tumorale la animale la care s-a indus o stimulare imună nespecifică.

S-a demonstrat că imunodepresia indusă prin diferite mijloace (blocare cu albastru tripan, iradiere, cortizon sau neuroleptice majore de tipul luv-a-trenului) are un efect de stimulare a creșterii și extensiunii tumorilor grefate.

În plus, prin modificarea terenului gazdă și/sau a celulelor tumorale, după injectarea intravenoasă a celulelor tumorale Walker 256 s-a indus o modificare și a selectivității de organ și apariția unor metastaze în afara sediilor prefe-

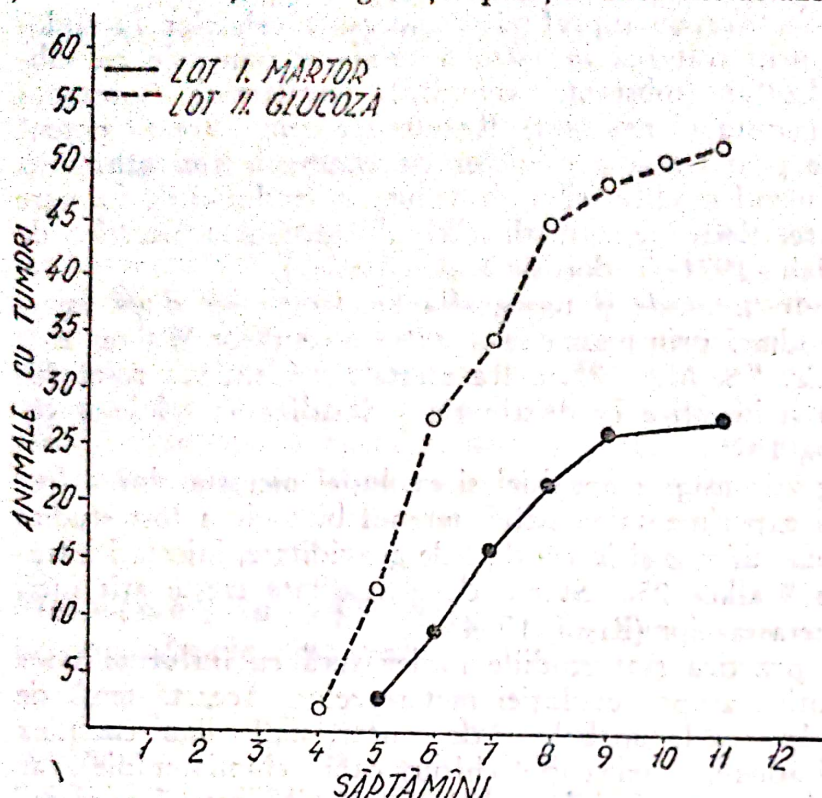


Fig. 7.20. — Incidența metastazelor experimentale pe săptămîni.

rențiale, (Chiricuță și colab., 1969; Rișcă și colab., 1971; Todoruțiu și Rișcă, 1977).

Imunostimularea nespecifică cu Polidin reduce incidența metastazelor. Aceste rezultate au putut fi îmbunătățite prin asocierea imunostimulării la un tratament anticoagulant cu heparină (Chiricuță și colab., 1973). Pe de altă parte, momentul începerii tratamentului în raport cu grefa tumorală (anterior, simultan, la diferite intervale de timp după grefă), precum și durata tratamentului, influențează considerabil incidența metastazelor experimentale. Cele mai bune rezultate au fost obținute la loturile tratate anterior grefei sau la 7, respectiv 14 zile după grefă. Aceste date sugerează importanța aplicării tratamentului de imunostimulare în faza micrometastazelor (Chiricuță și colab., 1978).

Datele noastre experimentale vin în sprijinul ipotezei actuale, potrivit căreia procesul de metastazare este dependent atât de proprietățile intrinseci ale celulelor tumorale, cât și de capacitățile reactive ale organismului gazdă.

7.11.

Concluzii

Cercetările din ultimul deceniu au realizat progrese remarcabile în oncologia experimentală și în special în biologia metastazelor. Astfel, în procesul de metastazare, s-au elaborat și stabilit etapele fundamentale, precum și rolul

factorilor celulari și ai celor dependenți de organismul gazdă, care colaborează la declanșarea lanțului de evenimente desfășurate în „cascada metastatică”.

Rezultatele experimentale au conturat și aprofundat complexitatea interacțiunilor celulare și umorale care pot influența evoluția unui focar metastatic, demonstrând existența unor comunicații între căile de metastazare (calea limfatică și sangvină), care explică, cel puțin parțial, apariția unor focare metastatice cu sedii neobișnuite.

Pe de altă parte, cercetări recente demonstrează evident că celulele canceroase, în evoluția lor spre constituirea unei mase tumorale, suferă unele influențe și își modifică caracterele biologice. În sânul aceleiași populații de celule tumorale au loc deci fenomene de selecție și accentuare a unora din caracterele malignității, proces care are ca rezultat obținerea unor variante celulare cu comportament biologic diferit. Aceste rezultate aduc informații de real interes și asupra patogeniei metastazelor. Cu alte cuvinte, constituirea focarelor metastatice nu este un proces întâmplător, ci unul de selecție riguroasă a unor subpopulații celulare cu potențial ridicat de metastazare, preexistentă în mozaicul celular al masei tumorale primare.

Din celulele tumorale migrate și oprite într-un organ, unele vor muri și nu vor da naștere la metastaze, altele vor trece în spațiile extravasculare și vor rămâne pentru multă vreme în stare „dormant”, însă capabile să genereze ulterior metastaze cu creștere autonomă.

Evoluția întregului proces este, pentru fiecare etapă, strict dependent de interacțiunile dinamice dintre proprietățile intrinseci ale celulelor tumorale și reacțiile organismului gazdă.

În ciuda progreselor realizate în domeniul biologiei metastazelor, există numeroase întrebări la care nu se poate răspunde. De exemplu: carcinoamele bazo-celulare ale feței, capabile să distrugă regiunea, nu metastazează niciodată. Nu se poate afirma că acest tip histologic nu are acces la vasele limfatice sau sangvine. De asemenea, unele tumori au anumite teritorii preferențiale de metastazare, care nu pot fi explicate numai pe baza legilor hemodinamicii și care presupun interacțiuni complexe, ce definesc și conturează terenul biologic pe care evoluează procesul.

La ora actuală, în întreaga lume se depun eforturi uriașe pentru înțelegerea cât mai exactă a fenomenului „cancer” și pentru găsirea unor modalități terapeutice cu adevărat utilă fiecărui caz în parte.

Domaniul oncologic este poate câmpul cel mai fertil de colaborare între diferiți specialiști: medici, biologi, chimiști, fizicieni. Aportul fiecărui domeniu va contribui într-un viitor apropiat la descifrarea unor necunoscute, legate de biologia cancerului.

Bibliografie

- AGOSTINO D., GROSSI C. E., CLIFFTON E. E. — *Arch. Surg.*, 1962, 84, 449—453.
 AGOSTINO D., CLIFFTON E. E. — *Ann. Surg.*, 1965, 161, 1, 97—102.
 ARIEL I. M., RESNICK M. I. — *Arch. Surg.*, 1967, 94, 117—128.
 BALDWIN R. W. — *Secondary Spread Of Cancer*, Academic Press, Londra, 1978.
 BASERGA R., SAFFIOTI U. — *Arch. Path.*, 1955, 59, 26—34.
 BATSON O. V. — The vertebral vein system, Caldwell lecture, 1956, In: *Bone Metastasis*, Ed. L. Weiss and H. A. Gilbert, G. K. Hall, Medical Publisher, Boston, S.U.A., 1981, 21-48.
 BENNETT H. S., LUFT J. H., HAMPTON J. C. — *Amer. J. Physiol.*, 1959, 196, 381.
 BERG J. W. — *Cancer (Phylad.)*, 1956, 9, 935—939.

- IVARSSON L., RUDENSTAM C. M. — *Brit. J. Cancer*, 1975, 32, 4, 502–509.
- LEIGHTON J. — *The Spread of Cancer*, Academic Press, New York-Londra, 1967, p. 81–114.
- LUDWIG J., TITUS J. L. — *Arch. Pathol.*, 1967, 81, 304–311.
- MADDEN E. R. — *Cancer Res.*, 1962, 22, 62–67.
- MASSON P. — *Tumeurs Humaines*, Ed. Maloine, 1956.
- MEISELS A., DUBREUIL-CHARROIS M. — *Acta Cytol.*, 1965, 9, 257–263.
- MITCHELL M. S. — *Conn. Med.*, 1978, 42, 266–268.
- OLWIN J. H. — *Surg. Gynec. Obstet.*, 1971, 132, 1 064–1 066.
- O'MEARA R. A. Q. — *Irish J. med. Sci.*, 1958, 394, 474–479.
- PILGH I. H., BARD D. S., RAMMING K. P. — *Amer. J. Roentgenol.*, 1971, 111, 48–55.
- PRESSMAN I. I., SIMON M. B. — *Surg. Gynec. Obstet.*, 1961, 113, 536–541.
- RIȘCĂ R., URAY Z., TODORUȚIU C. — *Agressologie*, 1971, 12, 383–388.
- RIȘCĂ R. — Teză de doctorat, I.M.F.-Cluj-Napoca, 1974.
- RIȘCĂ R., TODORUȚIU C. — *Brit. J. Cancer*, 1974, 30, 241–245.
- ROBERTS S., JONASSON O., MCGREWE E., McGRATA R., COLE W. H. — *Cancer (Phlaid.)*, 1962, 15, 232–240.
- RUZSNYAK I., FOLDI M., SZABO G. — *Lymphatics and Lymph Circulation*, Pergamon Press, Oxford, 1960.
- SABITSON D. C., ARCHER G. W., BLALOCK A. — *Ann. Surg.*, 1963, 158, 570–580.
- STEVENSON T. D., HAAM E. — *Acta Cytol.*, 1966, 10, 383–387.
- STRÄULI P. — The barrier function of lymph nodes, In: *Surgical Oncology*, Ed. Saegesser F. and Pettavel J., Baltimore, Williams and Wilkins Co., 1970, p. 161.
- SUGARBAKER E. V., KETCHAM A. S. — *Seminars in Oncol.*, 1977, IV, 1, 19–32.
- SUGARBAKER E. V. — Cancer metastasis: a product of tumour-host interactions, In: *Current Problems in Cancer*, III, 1979.
- TANNOCK I. F., STEEL G. G. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1969, 42, 771–782.
- THREEFOOT S. A., KOSSOVER M. F. — *Arch. Intern. Med.*, 1966, 117, 213–222.
- TODORUȚIU C., RIȘCĂ R. — *Morfol. norm. și pat.*, 1971, XVI, 3, 209–214.
- TODORUȚIU C., RIȘCĂ R. — *Morphol. Embryol.*, 1977, XXIII, 2, 141–149.
- TODORUȚIU C., CHIRICUȚĂ I., RIȘCĂ R., DAICOVICIU D. — *Morphol. Embryol.*, 1978, XXIV, 2, 157–160.
- WARREN B. A., SHUBIK P. — *Lab. Invest.*, 1966, 15, 464–478.
- WARREN B. A. — *J. Med.*, 1973, 4, 105–177.
- WARREN B. A., CHAUVIN W. J., PHILIPS J. — Bloodborne tumour emboli and their adherence to vessel walls, In: *Cancer Invasion and Metastasis: Biologic Mechanism and Therapy*, Ed. S. B. Day et al., Raven Press, New York, 1977.
- WARREN B. A. — Cancer cell — endothelial reactions: The microinjury hypothesis and localized thrombosis in the formation of micrometastases, In: *Malignancy and the Hemostatic System*, ed. by M. B. Donati et al., Raven Press, New York, 1981, p. 5–25.
- WEISS L. — *Semin. Oncol.*, 1977, 4, 1, 5–17.
- WEISS L. — Factors leading to the arrest of cancer cells in the lungs, In: *Pulmonary Metastasis*, Ed. Hall G. K. & Co., Boston, 1978, 5–25.
- WEISS L. — The pathophysiology of metastasis within the lymphatic system, In: *Lymphatic System Metastasis*, Ed. L. Weiss, H. A. Gilbert, S. C. Ballen, 1980, p. 2–40.
- WILLIS R. A. — *The Spread of Tumours*, In: *The Human Body*, Londra, Butterworth's and Co., 1973.
- WOOD S. JR. — *Arch. Pathol.*, 1958, 66, 550–568.
- WOOD S. — *Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss.*, 1964, 20, 92.
- WOOD S. — Mechanisms of establishment of tumour metastasis, In: *Pathobiology Annual*, Ed. Ioachim H. L., New York, Appleton-Century Crofts, 1971, p. 281–308.
- YOFFEY J. M., COURTICE F. C. — *Lymphatics, Lymph and Lymphoid tissue*, 2nd ed. Arnold E., Londra, 1956.
- ZEIDMAN I., BUSS J. M. — *Cancer Res.*, 1954, 14, 403–405.
- ZEIDMAN I. — *Cancer Res.*, 1965, 25, 324.

8. Biochimia cancerului

I. CHIRICUȚĂ ● OTILIA BOJAN

Cuprins

- 8.1. ADN și reglarea exprimării genomului celulei — 267
 - 8.1.1. Organizarea ADN în genom — 267
 - 8.1.2. Proteinele cromozomiale — 268
 - 8.1.2.1. Histonele — 269
 - 8.1.2.2. Proteinele nucleare nehistonice (NHCP) — 269
 - 8.1.2.3. Modificări ale proteinelor cromozomiale în celulele maligne *in vivo* — 271
 - 8.1.3. Tulburările reglării exprimării genomului în celulele canceroase — 273
 - 8.1.3.1. Hormonii ectopici — 273
 - 8.1.3.2. Antigene onco-fetale — 276
 - 8.1.3.3. Enzimele și izoenzimele — 276
- 8.2. Metabolismul proteic și creșterea tumorală — 281
 - 8.2.1. Proprietatea de „capcană de azot” a tumorilor — 282
 - 8.2.2. Poliaminele ca markeri tumorali — 283
 - 8.2.2.1. Biosinteza și metabolismul poliaminelor — 284
 - 8.2.2.2. Relația dintre sinteza poliaminelor, procesele de creștere și cancerul — 284
- 8.3. Glicoproteinele în cancer — 285
 - 8.3.1. Structura, biosinteza și catabolismul glicoproteinelor în celula normală — 286
 - 8.3.1.1. Structura glicoproteinelor — 286
 - 8.3.1.2. Biosinteza glicoproteinelor N-glicozidice și O-glicozidice — 286
 - 8.3.1.3. Catabolismul glicoproteinelor — 287
 - 8.3.2. Modificări ale glicoproteinelor în cancer — 287
 - 8.3.2.1. Modificări ale glicoproteinelor celulare — 287
 - 8.3.2.2. Modificări ale glicoproteinelor plasmatice — 291
- 8.4. Metabolismul glucidic în tumori — 293
 - 8.4.1. Glicoliza aerobă în cancer (teoria Warburg, efectul Crabtree) — 293
 - 8.4.2. Enzimele cheie și reglarea glicolizei — 294
- 8.5. Metabolismul lipidelor — 296
 - 8.5.1. Metabolismul acizilor grași liberi în tumori — 296
 - 8.5.2. Metabolismul fosfolipidelor în celula canceroasă — 297
 - 8.5.3. Metabolismul colesterolului în tumori — 298
- 8.6. Metabolismul hidro-mineral în celula canceroasă — 299

Încercările de a găsi trăsături biochimice specifice malignității, deși multe la număr, nu au dus la rezultatele scontate. Totuși, o caracteristică biologică majoră a cancerului este alterarea controlului metabolismului și funcției celu-

lare. Este binecunoscut faptul că multe din căile metabolice și modelele izoenzimice care caracterizează activitatea funcțională a țesuturilor adulte sînt înlocuite prin căi metabolice și modele izoenzimice proprii țesuturilor fetale (Weber G., 1976, 1977; Weinhouse S., 1977). Aceste modificări nu apar toate o dată cu transformarea malignă, multe din acestea exprimîndu-se în timpul dezvoltării tumorii maligne. Se creează în felul acesta un dezechilibru metabolic în cancer, care se corelează foarte bine cu progresia malignității.

8.1.

ADN și reglarea exprimării genomului celulei

Cercetările complexe efectuate în ultimul deceniu asupra materialului genetic la virusuri, bacterii, precum și la celule eucariote, au reușit să aducă oarecare lumină în organizarea genetică a genomului la mamifere.

8.1.1.

Organizarea ADN în genom

Genomul diploid al fiecărei celule umane constă din 7×10^6 perechi de baze ale ADN, subîmpărțite în 23 de perechi de cromozomi. Genomul diploid întreg conține suficient ADN pentru a putea codifica aproximativ 3 milioane de perechi de gene. Totuși, studiile efectuate privind rata sintezei proteice sugerează că oamenii au numai aproximativ 20 000—50 000 de proteine esențiale, ceea ce înseamnă că majoritatea ADN nu codifică, adică o parte din informația lui nu este niciodată transcrisă în secvențe de aminoacizi în proteine.

Două observații recente asupra relațiilor dintre ADN care codifică și ADN care nu codifică reușesc să explice această discrepanță. Prima observație se referă la faptul că din ARN heterogen (ARN_{hn}) transcris de pe ADN, numai o fracțiune mică ajunge în citoplasmă pentru a produce ARN mesager finit. Cea mai mare porțiune a materialului genetic transcris în nucleu este degradat la acest nivel. A doua observație, și mai recentă, este faptul că regiunile codificante din ADN sînt întrerupte în genom prin regiuni mari intercalate de ADN necodificat. În felul acesta, transcriptul primar (ARN_{hn}) conține secvențe interpușe necodificante de ARN, care și ele trebuie să fie îndepărtate într-un proces în care se efectuează de asemenea și lipirea regiunilor codificante potrivite pentru formarea unui ARN mesager matur. Majoritatea secvențelor codificante pentru un singur ARN_m sînt întrerupte în genom și de asemenea și în produsul primar de transcriere, prin cel puțin una pînă la aproximativ douăzeci de secvențe interpușe necodificante sau introni (fig. 8.1). În majoritatea cazurilor, intronii sînt mult mai lungi decît regiunile de codificare continuă din genom, denumite exoni. Această observație explică discrepanța dintre capacitatea de codificare a genomului uman și numărul real de regiuni de codificare (gene structurale) (Martin, 1981; Maximilian, 1982).

Funcția intronilor nu este clară. Se pare că prezența lor are rol în procesele de recombinare genetică și face posibilă adaptarea mai rapidă la nevoile funcționale ale celulei. Rearanjarea regiunilor funcționale (exoni) se poate

face mai ușor prin faptul că există aceste regiuni nefuncționale, decât dacă toată informația ar trebui să fie transcrisă în bloc și ulterior scindată și rearanjată în funcție de nevoile funcționale dintr-un moment dat. Aceste descoperiri au

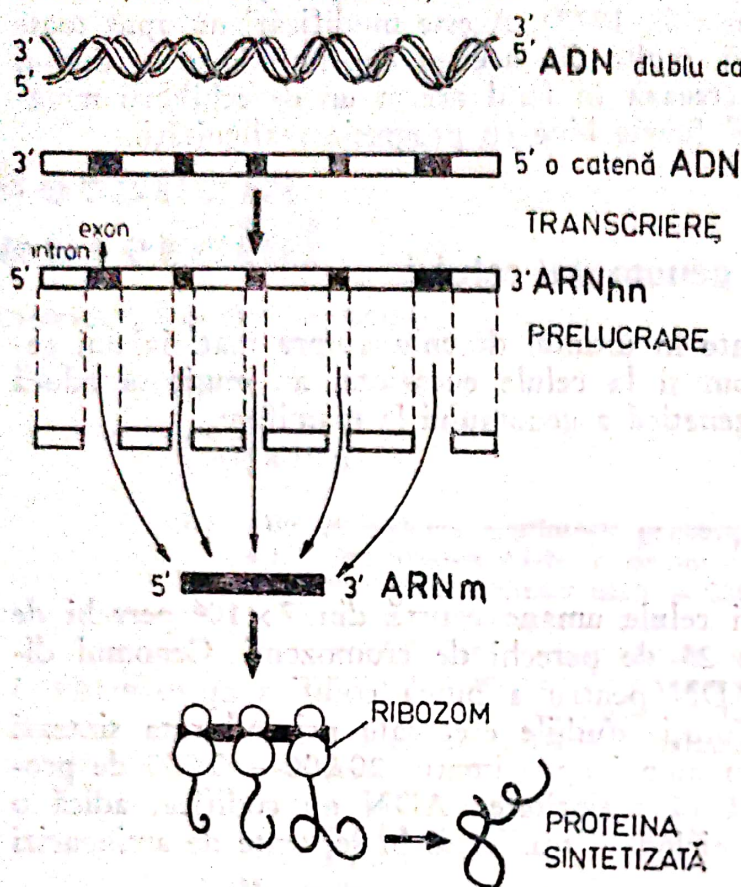


Fig. 8.1. — Schema modului în care informația genetică este exprimată în sinteza de proteine.

importanță foarte mare pentru o mai bună înțelegere pe viitor a reglării proceselor normale în celulă, precum și a dereglărilor care survin în cancer.

8.1.2.

Proteinele cromozomiale

Este unanim recunoscut că proteinele cromozomiale (histonele și proteinele nucleare nehistonice — NHCP) joacă un rol important în determinarea proprietăților structurale și funcționale ale genomului celular. Ele sînt implicate în toate aspectele genetice și anume în transcrierea informației genetice, în procesul de reglare a transcrierii acestei informații, în prelucrarea informației transcrise (processing) și în transportul acesteia pentru traducere în interiorul citoplasmei (Stein, 1976, 1978; Busch, 1979). Modificările în fenotipul celular, observate în timpul cancerogenezei, se datorează modificărilor oricărei etape amintite. Ele pot să apară în transcrierea informației genetice sau în prelucrarea acesteia. De asemenea, pot surveni schimbări și în urma interferenței dintre agenții cancerigeni cu mecanismele de control nuclear sau din interferența acestora cu propriul feedback din citoplasmă.

Cunoașterea modului în care interacționează proteinele cromozomiale cu informația codificată în secvența nucleotidelor din ADN dublu catenar, va face posibilă înțelegerea mecanismelor intime care stau la baza proceselor

biologice normale, cum sînt creșterea, dezvoltarea, diferențierea și menținerea fenotipului celular. În ultimul timp se subliniază din ce în ce mai mult rolul potențial al proteinelor cromozomiale în declanșarea și menținerea transformării neoplazice.

8.1.2.1.

Histonele

Histonele sînt proteine cromozomiale bazice, încărcate pozitiv, bogate în resturi de arginină și lizină și lipsite complet de triptofan. Histonele constituie clasa de proteine nucleare care sînt legate intim de ADN, în proporție de aproape 1:1. Există 5 specii echimoleculare majore de histone: 1, 2A, 2B, 3 și 4.

Studiile lui Huang și colab. (1964) au adus prima dovadă biochimică în sprijinul funcției histonelor ca represori ai sintezei ARN dependentă de ADN. Similitudinea histonelor în toate țesuturile unui organism este însă un indiciu clar al lipsei de specificitate al acestor proteine (Stein, 1976, 1978).

În ultimul timp s-a acordat o atenție mai mare aranjării histonelor de-a lungul moleculei de ADN și rolului lor în structura cromatinei. Datele biochimice și de microscopie electronică au evidențiat mănunchiuri de proteine de aproximativ 100 Å în diametru, care conțin cîte două molecule din fiecare histonă H₂A, H₂B, H₃ și H₄ și una sau două molecule de histone H₁ (Martin, 1981). Se formează deci complexe histone: ADN (fragmente de aproximativ 200 de perechi de baze) cunoscute sub numele de nucleozomi. Asemenea complexe au fost observate în toate celulele plantelor și animalelor, precum și în ADN al unor virusuri tumorale. Cercetările privind structura secvențială a acestor complexe au arătat că nu este necesară nici o secvență specifică în ADN pentru formarea nucleozomilor, fapt confirmat de formarea nucleozomilor de tip complex histone și ADN viral sau bacterian (Stein, 1978). Legăturile dintre nucleozomi, transcriere și unitățile de replicare necesită mai multe studii în viitor.

Din cele relatate reiese că histonele joacă un rol important în menținerea structurii genomului și în represia sintezei ARN dependentă de ADN. Cînd este alterată interacțiunea histone-ADN, se constată modificări în citirea genelor și în organizarea structurală a genomului. În concluzie, histonele sînt macromolecule structurale și reglatorii. Dar numărul lor mic și lipsa de specificitate sugerează că histonele nu pot să aibă acțiune reglatoare selectivă.

8.1.2.2.

Proteinele nucleare nehistonice (NHCP)

Descoperirea faptului că nucleii conțin un număr foarte mare de proteine nucleare nehistonice s-a făcut în laboratorul lui Busch în 1965. Progrese în analizarea numărului și tipurilor de proteine nehistonice s-au făcut destul de încet, din cauza dificultăților de solubilitate și de separare ale acestora. Cu toate aceste dificultăți se cunosc în prezent peste 600 de specii de proteine nucleare nehistonice (Busch, 1979). Proprietățile chimice și biologice ale NHCP au suferit o reconsiderare importantă. Astfel, analiza cromatografică a aminoacizilor proteinelor nucleare nehistonice totale a evidențiat o creștere a restu-

rilor de aminoacizi acizi, în special a acidului glutamic și aspartic. În contrast cu histonele, proteine extrem de stabile, proteinele cromozomiale nehistonice arată o variație foarte mare în ceea ce privește stabilitatea lor (de la câteva minute până la câteva generații de celule). De asemenea, în timp ce sinteza histonelor este cuplată strâns cu replicarea ADN, multe din proteinele nucleare nehistonice pot fi sintetizate în oricare fază a ciclului celular și sinteza lor nu este afectată în general de inhibiția replicării ADN (Stein, 1978). Majoritatea proteinelor nehistonice, ca și histonele de altfel, pot suferi modificări posttranslaționale. Aceste modificări includ acetilări, metilări și fosforilări. De asemenea, s-au evidențiat lanțuri de poliadenozin-difosfat-riboză legate de anumite proteine cromozomiale nehistonice, precum și glicoproteine și glucosaminoglicani, ca și componente ale NHCP. Toate aceste modificări posttranslaționale conferă acestor molecule o specificitate potențială crescută.

Funcțional, NHCP se definesc ca macromolecule structurale, enzimatice și reglatoare. Proteinele contractile asociate genomului sînt responsabile în cea mai mare parte de rolul structural al acestor NHCP. Sistemele enzimatice principale asociate cu NHCP sînt însumate în tabelul 8. I și reflectă diversitatea funcțională a acestor proteine. Diferențele cantitative și calitative ale NHCP au fost corelate cu alterările în comportamentul biologic al celulelor și țesuturilor care reflectă modificările în expresia genelor. Aceste diferențe în NHCP corespund cu rolul reglator atribuit acestor molecule. O modificare cantitativă importantă este creșterea raportului NHCP/ADN în cromatina activă din punct de vedere metabolic (transcripțional) numit eucromatină, în comparație cu cromatina inactivă, heterocromatina. Variațiile calitative în NHCP reflectă specificitatea lor de specie și de țesut. Pe lângă acestea, schimbările în compoziția și metabolismul diferitelor clase cu greutate moleculară diferită de NHCP însoțesc modificările în expresia genelor legate de dezvoltare, diferențiere, progresie în ciclul celular și alte fenomene biologice.

TABELUL 8.1

ENZIME COMPONENTE ALE NHCP

Acizi nucleici	Proteine cromozomiale
ADN polimeraze	Proteaze
ARN polimeraze	Metilaze
Nucleare	Kinaze
Nucleotidligaze	Poliadenozin-difosfat-ribozo-polimeraze
Nucleotidexotransferaze	Poliadenozin-difosfat-ribozo-glicohidrolaze
Metilaze	Acetilaze
	Dezacetilaze

Astfel, fosforilarea claselor de proteine nehistonice cu o anumită greutate moleculară a fost corelată cu modificările în activitatea genelor în mai multe sisteme biologice. Cercetările sugerează că această modificare metabolică a NHCP poate să aibă o importanță mare în mecanismul reglării secvenței genelor. Fosforilarea NHCP este catabolizată de ambele tipuri de proteinkinaze: dependente de AMP ciclic și independente de AMP ciclic (Stein, 1978).

Variațiile cantitative și calitative ale NHCP relatate sugerează într-adevăr rolul reglator al acestor macromolecule, dar dovezile expuse sînt numai de

natură corelativă și deci circumstanțială. Studiile transcripției informației *in vitro* și analiza ARN sintetizat au permis o determinare mai directă, dar nu prea concludentă a participării NHCP în controlul citirii genelor. Încercările inițiale de examinare a rolului NHCP în reglarea transcrierii informației s-au făcut prin determinarea efectului NHCP asupra sintezei ARN dependentă de ADN. Se constată că adăugarea directă de NHCP la complexe histone-ADN sau la diferite preparate de cromatină stimulează utilizarea ADN ca matriță pentru transcrierea ARN. Deși încurajatoare la început, aceste rezultate s-au dovedit neconcludente, datorită formării combinațiilor nespecifice.

Cu experiențe de reconstituire a cromatinei în care aceasta poate fi disociată și fracționată în principalele ei componente (ADN, histone, NHCP) și apoi cu o tehnică descoperită de Huang și colab. (1964), prin care cromatina poate fi reconstituită cu componente selective din genom, s-a dovedit că una din componentele NHCP poate fi implicată în transcrierea specifică a genei globinei. Deși tehnica transcrierii și reconstituirii *in vitro* a cromatinei are limitele ei, totuși, cu un control susținut, această tehnică reprezintă cea mai bună metodă pentru evaluarea contribuției proteinelor asociate genomului la exprimarea secvențelor genelor (Stein, 1978; Busch, 1979).

Progresele făcute în ultimii ani privind rolul proteinelor cromozomiale în determinarea proprietăților structurale și funcționale ale genomului permit următoarele concluzii: histonele acționează ca represori nespecfici ai sintezei ARN dependentă de ADN. În contrast cu acestea, NHCP, molecule heterogene și complexe, conțin unele componente care se pare că reglează transcrierea unor secvențe genetice particulare. Plecând de la aceste considerații, precum și de la concepția moleculară actuală, prin care cancerul este privit ca o boală a reglării expresiei genelor, vom expune în continuare modificările constatate până în prezent în conținutul și metabolismul proteinelor cromozomiale în celulele maligne *in vivo*.

8.1.2.3.

Modificări ale proteinelor cromozomiale în celulele maligne *in vivo*.

S-au găsit diferențe între histone și în modificările lor posttranslaționale între celulele neoplazice și corespondentele lor normale, atât prin tehnicile de separare cromatografică, cât și prin cele imunologice. Există însă mari greutăți în interpretarea rezultatelor, dată fiind marea posibilitate de contaminare a acestora cu proteine nucleare nehistonice.

În cazul fracțiunii histonice H_1 , care conține proteine bogate în lizină, se pot obține prin cromatografie subfracțiuni ale acestora, caracteristice acestei fracțiuni. De aceea, majoritatea cercetărilor s-au efectuat pe această fracțiune histonică. Deși la început s-a găsit că unele subfracțiuni ale H_1 existente în hepatom nu sînt prezente în ficatul normal și invers, s-a dovedit ulterior că aceste diferențe nu sînt reproductibile în alte tipuri de tumori și că s-ar datora mai degrabă diferențelor de extractibilitate.

În hepatomul Novikoff s-a găsit creșterea enzimelor care metilează histonele, însă alți cercetători au demonstrat că anumiți cancerigeni inhibă metilarea histonelor de către metil-transferază (Stein și colab., 1976). Deși raportul ADN-histone este similar cu normalul în leucemia umană și în hepatoamele experimentale la șobolan (Stein, 1978), au fost raportate diferențe în ceea ce privește cantitatea relativă, activitatea specifică și sinteza fracțiunilor histo-

nice în hepatoamele induse cu dimetil- și dietil-nitrozamină, în comparație cu normalul. Au fost semnalate de asemenea în mod incidental creșterea fosforilării histonelor fracțiunii H_1 în hepatoame, însă Balhorn și colab. (1972) au observat că creșterea fosforilării histonelor H_1 într-o varietate de tumori se corelează mai degrabă cu proliferarea celulară și nu este proprie malignității. Din datele experimentale existente reiese că legătura dintre alterările histonelor și transformarea neoplazică nu este foarte edificatoare până în prezent. Se poate sugera totuși că modificările în compoziția și metabolismul histonelor pot să ducă la o destabilizare a complexului ADN-histone, care are drept urmare creșterea folosirii genelor care transcriu informația.

Deoarece componentele proteinelor nucleare nehistonice au fost considerate ca reglatori specifici ai expresiei genelor în celulele mamiferelor, interesul cercetărilor din ultimii ani a fost canalizat spre aceste proteine nehistonice. În scopul evidențierii acestor modificări au fost studiați următorii parametri biochimici: raportul NHCP-ADN, fracționarea NHCP prin electroforeză pe poliacrilamidă, competența imunologică a complexelor NHCP-ADN și modificările survenite după transcrierea informației, cum este fosforilarea.

Raportul NHCP—ADN este semnificativ crescut în hepatoame și în celulele leucemice umane (Stein, 1978). Fracționarea NHCP prin electroforeză pe gel de poliacrilamidă a evidențiat diferențe calitative și cantitative între NHCP din celulele provenite din mai multe tipuri de tumori maligne și corespundentele lor normale. Unele diferențe cantitative au fost constatate în componentele tiolice ale unor proteine nucleare nehistonice în timpul cancerizării ficatului cu dietilnitrozamina. Prin experiențe imunologice Busch și colab., (1979) au demonstrat că fracțiunile NHCP din hepatomul Novikoff nu sînt identice cu cele din ficatul normal. Prin experiențe de hibridizare ARN—ADN Kostraba și Wang (1972) au sugerat că NHCP extrase din tumoarea Walker și ficatul normal sînt cel puțin parțial responsabile pentru diferențele ce apar în transcrierea informației între ficatul de șobolan și tumoarea Walker.

Fosforilarea NHCP a fost intens implicată în transcrierea genelor histonelor (Stein și colab., 1976). În cancerogeneza chimică s-a constatat o creștere a activității proteinkinazei 28 de zile după administrarea colorantului azotic în dietă. Pe lângă aceste date privind creșterea activității proteinkinazei totale nucleare, unii cercetători au caracterizat activitatea diferitelor fracțiuni enzimatică din celulele neoplazice, găsind în hepatom activitate în 5 subfracțiuni ale proteinkinazei, în comparație cu 3 subfracțiuni în nucleii celulelor ficatului normal. Cercetări ulterioare au constatat că aceste subfracțiuni sînt comune hepatomului Novikoff, tumorii ascitice Ehrlich și tumorii Walker. Aceste fracțiuni enzimatică sînt responsabile de fosforilarea unei singure proteine care se găsește numai în țesuturile neoplazice. Celulele neoplazice posedă deci nu numai o proteinkinază unică, dar și o fosfoproteină unică, substrat pentru enzimă.

Se impune multă precauție în interpretarea acestor modificări legate de proteinele cromozomiale din celulele maligne comparativ cu cele normale, pentru că aceste modificări pot să reflecte proliferarea celulară, dezvoltarea unui nou tip de celule, diferențe în conținutul cromozomial sau expresia unor virusuri endogene netumorale și deci pot să nu fie legate direct de transformarea malignă. În viitor, prin găsierea unui sistem biologic potrivit și a unei metodologii cît mai exacte, va fi posibilă studierea cu mai multă precizie a modificărilor proteinelor nucleare legate de transformarea malignă.

8.1.3.

Tulburările reglării exprimării genomului în celulele canceroase

Postulatul conform căruia cancerul este o boală a reglării genelor presupune funcționarea greșită a mecanismelor complexe care determină expresia genelor într-o celulă dată într-un anumit timp al ciclului ei de viață (Stein și colab. 1976). Deranjarea acestor mecanisme ar permite derepresia sau represiă genelor într-un mod care nu se întâlnește în celulele normale diferențiate (Stein și colab., 1978). Au fost aduse numeroase argumente în sprijinul acestui postulat în ultimii ani, prin examinarea celulei canceroase la nivelul ei molecular. Un exemplu ilustrativ al proprietății celulelor maligne de a exprima informația genetică normal represată înainte ca celula să devină canceroasă, este producerea de hormoni ectopici de către tumori care provin din țesuturi neendocrine (Goodall și colab., 1969; Ratcliff și colab., 1976).

Alte dovezi ale expresiei alterate a genelor în neoplazie sînt pierderea exprimării genei care determină sinteza α 2u-globulinei (o proteină sintetizată în celulele parenchimului șobolanilor masculi). Feigelson și colab., (1975) au arătat că dispariția α 2u-globulinei în timpul hepato-cancerogenezei este rezultatul lipsei unui ARNm funcțional pentru această proteină, ceea ce ar fi o dovadă a alterării capacității transcripționale a țesutului neoplazic. În ultimul timp sau acumulat numeroase dovezi în privința apariției antigenelor oncofetale și a formelor moleculare fetale ale enzimelor, precum și în ceea ce privește exprimarea izoenzimelor celulare heteroloage de către celulele neoplazice (Stein și colab., 1978). Un exemplu pentru o asemenea izoenzimă este izoenzima Regan a fosfatazei alcaline, care a putut să fie izolată în cantități foarte mici din placenta fetală și care a fost găsită la bolnavi cu cancer pulmonar, cancer al tractului digestiv, cancer genital. O izoenzimă specifică țesutului trofoblastic poate fi așadar evidențiată în tumori canceroase cu altă origine. Apariția acestei izoenzime se face în proporție de 100% din cazurile studiate. În continuare, vom detalia două aspecte mai importante ale alterării expresiei genetice în cancer.

8.1.3.1.

Hormoni ectopici.

În literatura medicală din ultimele două decenii apare din ce în ce mai frecvent termenul de sindrom paraneoplazic endocrin sau sindrom hormonal ectopic. Prima dovadă că tumorile provenite din țesuturi neendocrine pot sintetiza hormoni („hormoni ectopici”) a fost adusă prin demonstrarea nivelurilor crescute de ACTH în plasma și țesutul tumoral la bolnavii cu tumori extrahipofizare. În acea perioadă producția ectopică de hormoni era considerată o raritate și a suscitat un viu interes mai ales printre clinicieni. În ultimul deceniu însă au fost identificați mulți hormoni polipeptidici produși de tumori maligne provenite din țesuturi neendocrine. Deși majoritatea acestora sînt produși în special de un anumit tip de tumoare malignă și anume carcinomul pulmonar cu celule mici, s-a dovedit ulterior că producția ectopică de hormoni nu se limitează numai la acest tip de cancer. Producția hormonilor ectopici nu este limitată numai la hormonul normal, ci cuprinde și precursorul hormonului normal, subunități ale acestui hormon, precum și produși de degradare ai acestuia. În timp ce toți aceștia din urmă

au activitate biologică relativ mică, ei pot păstra întreaga lor reactivitate imunologică. Aceste ultime observații au importanță particulară pentru că atrag atenția asupra posibilității utilizării lor ca markeri tumorali.

Efectele clinice ale producției ectopice de hormoni pot fi dramatice și prognosticul poate fi legat mai degrabă de controlul metabolismului deranjat decât de istoria naturală a tumorii însăși. În cazuri rare prezența unui sindrom clinic identificat poate fi primul indiciu al unui neoplasm și precede diagnosticul bolii cu câteva luni.

Sindroamele hormonale ectopice cel mai frecvent întâlnite și descrise în literatură, sînt: sindromul de hipercorticism sau sindromul ectopic ACTH, sindromul de hipervasopresinism dat de producția improprie de ADH (SIADH) și sindromul hipercalcemic sau hipercalcemia nemetastatică. Mai există și alte sindroame ectopice, care se întîlnesc mai rar decât cele enumerate.

Estimarea acestor sindroame este diferită, depinzînd de faptul dacă s-au utilizat pentru diagnostic criteriile clinice sau biochimice. La bolnavii fără manifestări clinice ale producției hormonilor ectopici valoarea măsurătorilor hormonale încă nu poate fi corect apreciată. În prezent însă, nu există o teorie general acceptată care să explice incidența, specificitatea tumorii și structura hormonilor ectopici (Stutzman și colab., 1976). De aceea, prezentarea noastră se va baza pe aspecte clinice, patologice și biochimice ale secreției de hormoni ectopici.

Sindromul de hipercorticism sau sindromul ectopic ACTH. S-au semnalat pînă în prezent cîteva sute de cazuri de sindrom Cushing indus de producția ectopică de ACTH. Frecvența producției de ACTH ectopic în diferite tipuri de tumori maligne este ilustrată în tabelul 8. II.

TABELUL 8. II

FRECVENȚA PRODUCȚIEI ACTH ECTOPIC ÎN DIFERITE TIPURI DE TUMORI
(STUTZMAN, 1976)

Tumora	Cazuri %
Cancer bronho-pulmonar	50
Cancer pancreatic	10
Cancer timic (timom)	10
Cancer medular al tiroidei	5
Tumori ale crestei neurale (feocromocitom, neuroblastom)	5
Adenom bronșic	2
Cancer cu localizări diverse	18

Tumoarea asociată cel mai frecvent cu producția ectopică de ACTH este carcinomul bronho-pulmonar și în special tipul histologic nediferențiat cu celule mici. Din grupa cancerelor cu diverse localizări cităm, în ordinea frecvenței, carcinomul de ovar, sîn, testicule, tiroidă, rinichi, stomac și colon.

În sindromul de hipercorticism simptomatologia clinică și probele de laborator diferă de cele clasice din boala Cushing, iar cînd evoluția locală a tumorii permite o supraviețuire mai lungă, tulburările sînt mai severe. Concentrația crescută a cortizolului plasmatic duce la retenție de sodiu, edeme, alcaloză hipopotasică, simptome ce apar de 2—5 ori mai frecvent decât în boala Cushing. Cea mai importantă diferență se datorează naturii

autonome a secreției hormonale ectopice. Astfel, injectarea dexametazonei la bolnavii cu sindrom de hipercorticism nu duce la suprimarea excreției 17-hidroxi-corticoizilor, în timp ce în boala Cushing determină o scădere puternică a acestora (Ratcliff și colab., 1976). Încercările de a verifica identitatea ACTH tumoral au demonstrat o mare similitudine în ceea ce privește efectele biologice, caracterul biochimic și imunologic cu ACTH hipofizar. De asemenea, în urma testărilor imunochimice și fizico-chimice, ACTH ectopic apare identic cu cel hipofizar. Dovada sigură a identității acestor două molecule poate fi făcută numai de verificarea identității secvenței aminoacizilor din cele două molecule de ACTH.

Sindromul de hipervasopresinism (sindromul Schwartz-Bartler) este determinat de secreția ectopică de ADH, hormon-antidiuretic hipofizar sau vasopresina. A fost descris prima dată de Schwartz (1956) și de Ratcliff (1976), legat de carcinomul bronho-pulmonar. Tabloul clinic constă în hiponatremie, hipoosmolaritate plasmatică și a lichidului extracelular, cu creșterea continuă a excreției urinare a sodiului și creșterea osmolarității urinii, concomitent cu hipotonicitatea serului. Funcția renală și glomerulară este normală și azotul ureic și creatinina sangvină sînt neobișnuit de scăzute. Tensiunea arterială este normală, datorită creșterii volumului extracelular, iar funcția corticosuprarenalei este normală. Cancerul bronho-pulmonar este cel mai adesea asociat cu acest sindrom și în special tipul histologic cu celule mici reprezintă 90—95% din cazurile întâlnite. Au fost întâlnite, mai rar și în cazuri izolate, carcinoame duodenale și de pancreas care secretă ADH ectopic.

Dozările biologice și cele radio-imunologice ale vasopresinei din sângele și urina bolnavilor cu acest sindrom confirmă prezența hormonului ADH. De asemenea, substanța extrasă din fragmente de tumori care secretă ADH și din metastazele lor injectată la animale de laborator manifestă activitate antidiuretică comparabilă cu cea a vasopresinei naturale.

Sindromul hipercalcemic, denumit și sindrom ectopic hiperparatiroidian, însoțește cel mai frecvent tumorile de sân, plămîn, rinichi și ovar, dispărînd după extirparea chirurgicală a tumorii. Există două ipoteze asupra mecanismului de producere a acestei hipercalcemii paraneoplazice. Potrivit primei ipoteze, tumoarea ar secreta un hormon cu efect trofic asupra paratiroidelor. Paratiroidele însă nu sînt hipertrofiate și paratiroidectomia nu a ameliorat simptomatologia bolii. A doua ipoteză și cea unanim admisă pînă în prezent afirmă că tumoarea ar produce un hormon ectopic paratiroidian (hormon-like) (Ratcliff și colab., 1976). Testele biologice și imunologice ale substanțelor secretate de tumoare sînt identice cu cele ale hormonului paratiroidian natural. Clinic, hipercalcemia se manifestă prin poliurie, anorexie, greață, disfagie, constipație, hipotonie, aritmie cardiacă, depresiune psihică; toate aceste manifestări pot deveni dramatice, ducînd la comă.

Sindromul hipoglicemic. În 1961, Schönfeld și Goodall și colab. (1969) au evidențiat o substanță insulin-like într-un hepatom. Ulterior, factorul hipoglicemiant (HPF) sau insulin-like s-a putut extrage din mai multe tipuri de tumori maligne și care administrat la animale reproduce efectele insulinei normale. Factorul hipoglicemiant diferă imunologic de insulina normală. Aspectul clinic al acestui sindrom este hipoglicemia, care poate să apară sau înaintea diagnosticării cancerului, sau în neoplasmele avansate. În majoritatea cazurilor simptomele sînt ușoare, dar uneori pot fi foarte severe și greu de stăpînit, chiar prin perfuzii continue cu glucoză.

Sindromul de hipertireotrofinemie. Au fost publicate aproximativ 50 de cazuri la care s-a constatat hipertireotrofinemie ectopică. Tumorile responsabile de secreție ectopică de tireotrofina sunt tumori ale glandelor anexe și ale tubului digestiv. Prin dozări radio-imunologice s-a evidențiat tireotrofina în țesutul tumoral. Din punct de vedere practic este bine ca în toate hipertiroidismele, în special în cele care survin la persoane peste 50 de ani și care realizează tabloul unei tireotxicoze pure, să se facă investigații multiple pentru elucidarea coexistenței unui proces malign responsabil de aceste tulburări.

Sindromul de hipergonadotrofinemie. Acest sindrom este determinat de biosinteza ectopică de gonadotrofine de către tumori ce provin din țesuturi netrofoblastice. Producția fiziologică de gonadotrofine provine fie din glanda hipofiză, sub forma hormonului luteinizant (LH), fie din celulele trofoblastice, gonadotrofina corionică umană (HCG). Tumorile care iau naștere din elemente trofoblastice reprezintă 90% din tumorile care produc gonadotrofine. Folosind metode radio-imune capabile să evidențieze niveluri mai mici de 1 ng de gonadotrofina / ml, s-a putut constata că pe lângă bolnavii cu tumori provenite din celule trofoblastice, 60 de bolnave din 830 studiate, deci 7% cu neoplasme provenite din țesuturi netrofoblastice au niveluri crescute de HCG. Tumorile care nu provin din gonade și care produc HCG ectopic, sunt în primul rând carcinomul bronho-pulmonar, tipul cu celule mici, carcinomul gastric, hepatomul, hepatoblastomul, cancerul de sân, melanomul malign, mielomul multiplu, limfoamele ne Hodgkiniene și, ocazional, cazuri de leucemie.

Semnele clinice ale acestui sindrom sunt la bărbații adulți ginecomastia, la femei amenoreea sau menometroragia și pubertatea precoce la copii în prepubertate. Folosind tehnici radio-imunologice în evidențierea producției de HCG, sau a subunităților acestora, de către tumorile netrofoblastice și chiar a celor trofoblastice, această determinare poate constitui un indicator al apariției recidivelor, precum și al răspunsului la terapie (Ratcliff și colab., 1976).

8.1.3.2.

Antigene onco-fetale (vezi Capitolul „Imunologia tumorilor“).

8.1.3.3.

Enzime și izoenzime.

Unul din cele mai ilustrative exemple ale fenomenului exprimării genelor de oncodezvoltare este apariția izoenzimelor fetale în cancer. Weinhouse și colab. (1976), bazați pe date experimentale multiple, obținute pe hepatoame Morris, au schițat această alterare a profilului izoenzimatic în cancer. Potrivit părerii acestor autori, izoenzimele primordiale care apar în stadiile timpurii de dezvoltare a fătului și care reprezintă singura specie moleculară în toate organele fetale, dispar treptat în timpul diferențierii normale a organismului și sunt înlocuite de izoenzime normale adulte. În tumori procesul este inversat și anume izoenzimele adulte se pierd treptat și apar în schimb izoenzimele primordiale. Modelul izoenzimatic fetal nu apare invariabil legat de transformarea malignă, dar reprezintă totdeauna o manifestare a gradului de dediferențiere a tumorii.

Din aceste motive, majoritatea cercetărilor au fost făcute pe tumori hepatice cu grad diferit de creștere (heptoame Morris), care conțin același tip de celule, permițând stabilirea unor corelații între comportamentul biochimic și biologic al celulelor transformate malign și corespondentele lor normale pe de o parte și pe de altă parte permit corelarea acestor modificări cu gradul de dediferențiere a tumorilor. În felul acesta, pot fi studiate alterările căilor metabolice și profilurilor izoenzimaticice legate pozitiv sau negativ de gradul de malignitate, ca indicatori ai progresiei malignității pe de o parte și pe de altă parte modificarea profilului izoenzimatic legat de transformarea malignă propriu-zisă.

Weber (1976, 1977) a încercat o sistematizare a datelor existente privind modificările cantitative și calitative ale enzimelor din principalele căi metabolice, care survin în timpul transformării și progresiei neoplaziei în hepatoamele cu grad diferit de creștere. Weber, consideră că reglarea expresiei genelor și reprogramarea expresiei acestora în neoplazie se exercită prin enzimele cheie. Denumirea lor derivă din funcția de reglare a vitezei și direcției fluxului metabolic în căile de sinteză și catabolism antagoniste și competitive. Există și enzime ale căror modificări nu sînt legate direct de neoplazie; asemenea enzime se găsesc de obicei în exces și guvernează reacții reversibile, existînd în ambele căi metabolice. Activitatea acestor enzime nu este mult alterată de reglarea endocrină, nutritivă și hormonală a gazdei și modificarea lor nu se corelează nici cu transformarea și nici cu progresia neoplaziei. Exemple de aceste enzime în metabolismul hidraților de carbon sînt: aldolaza, lactat-dehidrogenaza, fosfo-hexozo-izomeraza etc., în metabolismul pirimidinnucleotidelor dihidro-orotat-oxidaza, în metabolismul purin-nucleotidelor guanozin-monofosfat-kinaza (GMP-kinaza).

Modificări enzimatice în metabolismul pirimidin-nucleotidelor și ADN. S-a constatat că enzimele cheie din calea biosintezei *de novo* a acizilor nucleici și a căilor de recuperare a ADN și pirimidin-nucleotidelor cresc, iar enzimele de catabolism opuse acestora scad paralel cu ritmul de creștere a tumorii hepatice. Ca rezultat al acestor modificări în cantitatea acestor enzime se stabilește un dezechilibru progresiv între activitatea enzimelor de sinteză și catabolism. În felul acesta, raportul ratei de incorporare a timidinei în ADN și rata de degradare a timidinei la CO_2 reprezintă corelația cea mai strînsă cu rata de creștere a tumorii și poate fi folosit pentru măsurarea ratei de creștere și malignitate a acesteia (Weber, 1976, 1977, 1981) (tabel 9.4.). Pe lîngă aceste alterări enzimatice legate de progresele malignității, există și alterări enzimatice care apar în toate hepatoamele și deci sînt legate de transformarea malignă; astfel, creșterea activității enzimelor care sintetizează uridintrifosfatul (tabelul 9.3.). Dezechilibrul creat în căile metabolismului pirimidinelor și al ADN, legat de transformarea și progresia neoplaziei, înzestrează celula tumorală cu o capacitate crescută de sinteză a ADN și pirimidin-nucleotidelor, conferindu-i un avantaj față de celulele normale. Pe de altă parte, enzimele cheie din acest metabolism constituie ținte importante pentru acțiunea selectivă a unor substanțe citostatice (hidroxiureea, antifolatul, 5-fluorouracilul și citozin-arabinozida).

Modificări enzimatice în metabolismul glucidic. Ficatul și hepatoamele sînt foarte permeabile la glucoză, a cărei soartă în organism este deci determinată de activitatea și concentrația sistemelor enzimatice competitive.

În lumina concepției corelației moleculare a lui Weber (1976, 1977) există o legătură vitală între diferențiere și transformarea malignă. În concepția acestui autor, sinteza proteică, asociată tumorigenezei, este programată greșit și nu la întâmplare. Astfel, el consideră că modificările metabolice care se întâlnesc în toate liniile de hepatoame studiate sînt modificări legate de transformarea malignă și anume scăderea sintezei glicogenului, care se datorează scăderii concentrației celor patru enzime cheie ce participă în procesul gluconeogenezei.

Alterările enzimatice legate de progresia neoplaziei se concretizează în creșterea activității enzimelor cheie glicolitice, o scădere a enzimelor cheie din calea gluconeogenezei și o schimbare a profilului izoenzimatic cu înlocuirea tipului hepatic cu Km mare cu tipul izoenzimatic cu un Km mic, care răspunde mai puțin sau de loc la reglarea nutrițională, endocrină și control feedback. Ca rezultat al acestei reprogramări a expresiei genetice în celula canceroasă se instalează un dezechilibru biochimic cu predominanța glicolizei și a enzimelor cheie glicolitice asupra celor gluconeogenice. Acest dezechilibru este cel mai bine evidențiat prin măsurarea raportului enzimelor cheie opuse. Ca un rezultat al schimbării izoenzimatic celula canceroasă își pierde sensibilitatea căii glicolitice la reglare. Deci, dezechilibrul metabolismului hidraților de carbon în celulele canceroase aduce după sine ambele alterări și anume: alterări cantitative în raportul enzimelor cheie opuse și căile metabolice opuse și calitative, schimbări ale modelului izoenzimatic. Aceste alterări în exprimarea genomului sînt legate de creșterea gradului exprimării proprietăților maligne (progresia malignității). Dezechilibrul în metabolismul hidraților de carbon conferă avantaje selective celulei canceroase.

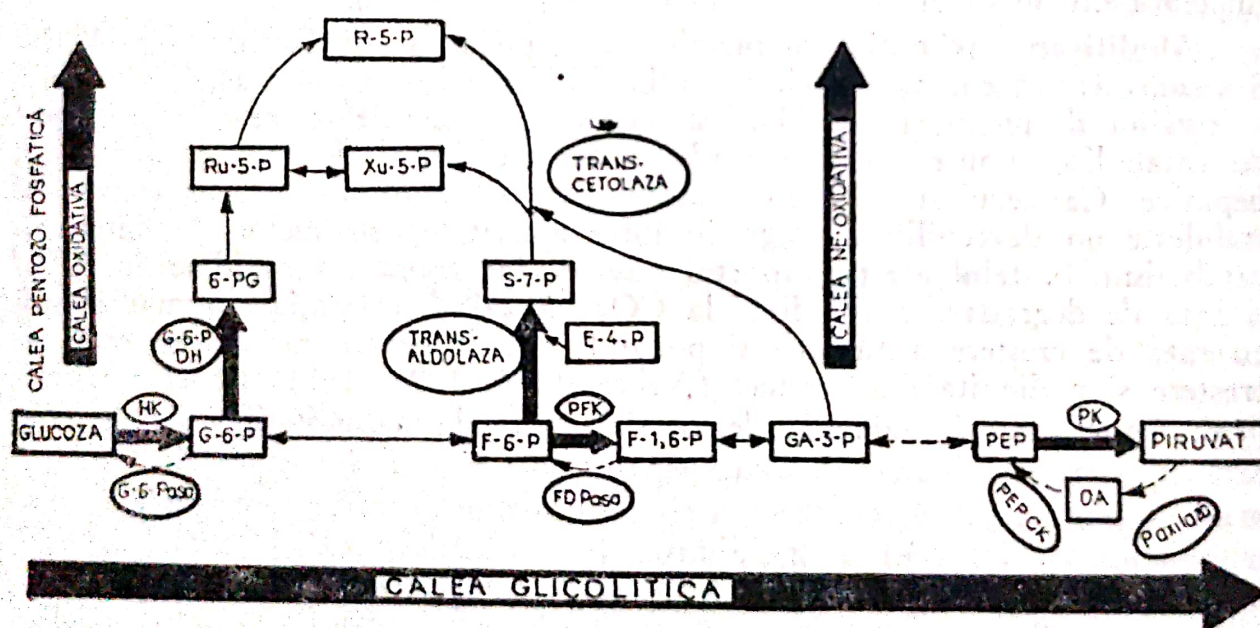


Fig. 8.2. — Efectul neoplaziei asupra enzimelor cheie din calea pentozo-fosfatică și a enzimelor cheie din glicoliză și gluconeogeneză. Săgețile groase și subțiri indică creșterea activității enzimatiche și cele întrerupte scăderea activității enzimatiche, paralel cu creșterea tumorii.

În calea pentozo-fosfatică de degradare a glucozei activitatea a două enzime (glucozo-6-fosfat dehidrogenaza și transaldolaza) este crescută în toate liniile de hepatoame, indiferent de ritmul de creștere. Reacțiile de biosinteză a pentozo-fosfatului sînt crescute în tumori (fig. 8.2.). Legătura între ribozo-5-

fosfat (R-5-P) și metabolismul purinelor este efectuată prin fosforibozil-pirofosfat-sintetaza (PRPP sintetaza), care utilizează R-5-P pentru producerea PRPP. Această activitate enzimatică se menține în limite aproape normale în hepatoamele cu creștere lentă și medie și crește remarcabil în hepatoamele cu creștere rapidă.

Modificări enzimatice în metabolismul purin-nucleotidelor. Biosinteza *de novo* a purin-nucleotidelor pleacă de la PRPP și calea de recuperare a acestora produce ca metabolit cheie acidul inozinic (IMP). Din IMP o cale se îndreaptă spre biosinteza *de novo* a AMP, ADP și ATP (adenozin-mono-, di- și trifosfat) și altă cale spre XMP, GMP și GTP (xantozin-5'-monofosfat și guanozin-mono- și trifosfat) (fig. 8.3.).

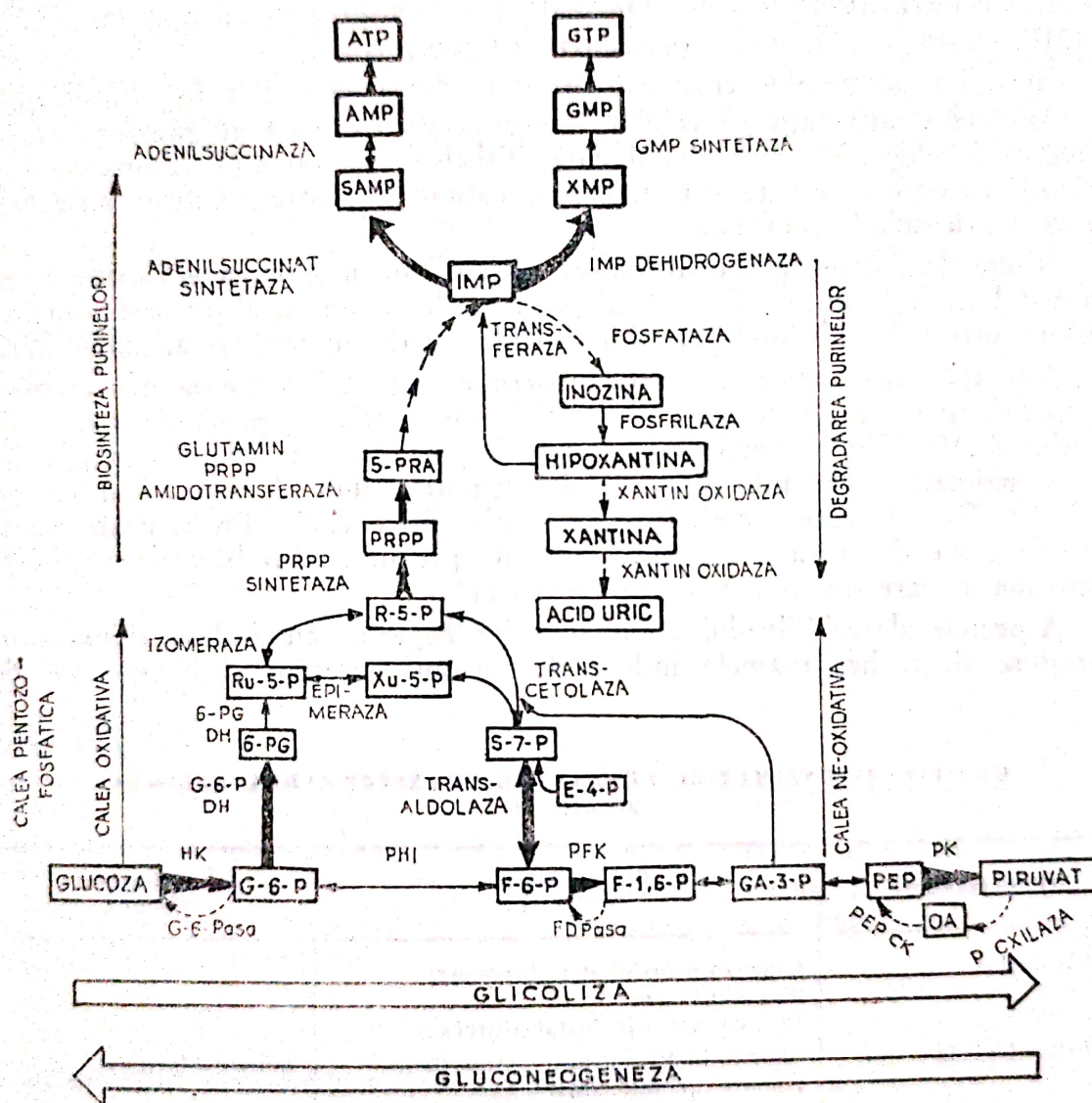


Fig. 8.3. — Reprezentarea schematică a dezechilibrului activității enzimelor cheie din metabolismul glucidic, pentofo-fosfatului și a purin-nucleotidelor (Weber, 1977).

Și în cazul biosintezei și degradării IMP s-au examinat două enzime opuse și anume glutamin-fosforibozil-pirofosfat-amidotransferaza și xantin-oxidaza. Activitatea amidotransferazei crește de 1,5 ori până la 3 ori în toate neoplasmalele din spectrul hepatoamelor studiate. Xantinoxidaza, enzima care

limitează rata catabolismului IMP, este scăzută de 2—10 ori în toate hepatoamele, indiferent de rata de creștere. Deci, și în acest caz se creează un dezechilibru în favoarea căii biosintezei purinelor, care se corelează cu transformarea malignă. În felul acesta reprogramarea expresiei genelor în celulele neoplazice procură o capacitate crescută pentru biosinteza adenin-nucleotidelor și excesul de AMP poate fi canalizat spre IMP. Utilizarea IMP în sinteza *de novo* a adenin-nucleotidelor este realizată de enzimele adenil-succinat-sintetaza și adenil-succinaza, iar IMP-dehidrogenaza dirijează IMP spre biosinteza guaninnucleotidelor. În toate hepatoamele, activitatea adenil-succinat-dehidrogenazei și adenil-succinazei este crescută de 1,6—3,7 ori și respectiv 1,4—2,7 ori față de ficatul normal. AMP-dezaminaza, care reconvertește AMP la IMP, crește paralel cu rata de creștere a tumorii (fig. 8.3.).

În urma progreselor efectuate în enzimologia tumorilor în ultimii 10—15 ani, vechea afirmație că celulele canceroase și normale nu prezintă nici o diferență biochimică a fost abandonată. Tabelele 8.III și 8.IV însumează cele mai edificatoare diferențe cantitative și calitative dintre celulele canceroase și corespondentele lor normale.

Alterările legate de transformarea malignă în activitatea enzimelor cheie din metabolismul pentozo-fosfatic al purin-nucleotidelor și al pirimidin-nucleotidelor ilustrat în tabelul 8.III, sînt considerate drept markeri ai malignității.

Alterările enzimatice legate de progresie sînt mai numeroase; s-au găsit că aproximativ 70 de markeri enzimatici s-ar corela cu progresia neoplaziei (tabelul 8.IV). Din schimbările calitative importante sînt schimbarea profilului izoenzimatic prin înlocuirea tipului hepatic adult de izoenzimă cu cel fetal. În afară de izoenzimele enzimelor glicolitice cheie (PK și hexokinaza) și alte enzime din căile metabolice amintite prezintă schimbări ale profilului izoenzimatic, care sînt însemnate pe tabel cu (*).

Aspectele dezechilibrului enzimatic din hepatoamele induse chimic sînt reproduse și în hepatoamele induse de virusuri, precum și în spectrul de

TABELUL 8.III

MODIFICĂRI ENZIMATICE LEGATE DE TRANSFORMAREA MALIGNĂ
(WEBER, 1977)

Arii metabolice	Căi de sinteză (crescute)	Căi de degradare (scăzute)
Pentozofosfat	Glucozo-6-fosfat-dehidrogenaza Transaldolaza Fosforibozil-pirofosfat-sintetaza	
Purin nucleotide	Glutamin-PRPP-amidotransferaza Adenil-succinat-sintetaza Adenil-succinaza AMP-dezaminaza IMP-dehidrogenaza	Inozinfosforilaza Xantinoxidaza
Pirimidin nucleotide ADN	Orotat-fosforibozil-transferaza Orotidin-5'-fosfat-decarboxilaza (*Uridin-kinaza UDP-kinaza GTP-sintetaza	Uricaza Timidin-fosforilaza

TABELUL 8. IV

MODIFICĂRI ENZIMATICE LEGATE DE PROGRESIA MALIGNITĂȚII
(WEBER, 1977)

Metabolismul acizilor nucleici	Metabolismul hidraților de carbon	Metabolismul proteinelor și aminoacizilor	Alte arii metabolice
<i>Sinteza pirimidin-nucleotidelor ARN, ADN — crește</i> (* Carbamil-fosfat-sintetaza Aspartat-carbamil-transferaza Dihidroorotaza CTP-sintetaza Uridinkinaza Ribonucleotid-reduc-taza Timidilat-sintetaza Deoxicitidilat-deaminaza (* Timidin-kinaza) ADN-polimeraza ADN-nucleotidil-transferaza tARN-metilaza <i>Catabolismul pirimidin-nucleotidelor — scade</i> Dihidrouracil-dehidrogenaza <i>Sinteza purin-nucleotidelor — crește</i> IMP dehidrogenaza AMP dezaminaza <i>Catabolismul purin-nucleotidelor — scade</i> Adenilat-kinaza	<i>Catabolismul glucozei — crește</i> (* Ile-xokinaza Fosfo-fructokinaza (*Piruvat-kinaza <i>Sinteza glucozei — scade</i> Glucozo-6-fosfataza Fructozo-1,6-difosfataza Fosfoenol-piruvat-carboxikinaza Piruvat-carboxilaza <i>Enzyme de fosforilare specifice — scad</i> Fructokinaza (* Glucokinaza) <i>Metabolismul fructozei — scade</i> Tiokinaza (* Aldolaza	<i>Sinteza proteică — crește. Incorporarea aminoacizilor în proteine (ala, asp, gly, ser, ileu, val)</i> <i>Enzyme care catabolizează aminoacizii — scad</i> Glutamat-dehidrogenaza Glutamat-oxalacetat-transaminaza Tryptofan-pirolaza Serotonin-dezaminaza 5-Hidroxitriptofan-decarboxilaza <i>Cicluul ureei</i> Ornitin-carbamil-transferaza	<i>Alte arii metabolice</i> Metabolismul. AMPe de membrană, cAMP fosfodiesteraza (crește) Adenilat-ciclaza (scade) <i>Sinteza poliaminelor — crește</i> Ornitin-decarboxilaza <i>Sinteza poliaminelor — scade</i> S-Adenozil-metionin-sintetaza <i>Utilizarea corpilor cetonici — crește</i> Succinil-CoA Acetoacetat-CoA-transferaza <i>Metabolismul lipidelor — scade</i> Alfa-glicerofosfat-dehidrogenaza HMG. CoA-sintetaza

tumori renale la șobolani, hepatom primar la om, hipernefrom uman, cancer de colon la om (Weber, 1977, 1981). Desigur și alte arii metabolice importante prezintă modificări enzimatic, amintite doar în tabel (exemplu: metabolismul lipidic, colesterol, poliamine).

8.2.

Metabolismul proteic și creșterea tumorală

Încercările de a găsi diferențe specifice între proteinele normale și canceroase nu au dus la rezultatele scontate. Constatarea lui Kögl în 1939 că proteina tumorală este formată din aminoacizi nenaturali din seria dextrogiră nu a fost confirmată de cercetările ulterioare efectuate pe hidrolizate proteice. Căile de biosinteză și catabolism ale proteinelor din celulele normale sînt prezente și eficiente și în celulele canceroase, echilibrul acestora este însă deranjat în sensul predominării proceselor de biosinteză (Weber, 1967; Potter, 1969).

8.2.1.

Proprietatea de „capcană de azot” a tumorilor

O proprietate importantă a celulei canceroase o constituie capacitatea acesteia de a încorpora din economia gazdei aminoacizi, proteine, și chiar celule întregi, proprietate cunoscută în literatură sub numele sugestiv de „capcană de azot” (Le Page și colab., 1960; Busch, 1962). Această proprietate conferă țesutului tumoral capacitatea de a crește și a se dezvolta chiar în condițiile unei balanțe negative de azot a gazdei. S-au făcut cercetări care au demonstrat că în timpul creșterii tumorale are loc o devastare a țesuturilor gazdă, care se reflectă în pierderea proteinelor din mușchi. Mecanismul intim prin care se face acest exod al proteinelor din țesuturile gazdă spre tumoare nu se cunoaște exact. Unele cercetări îl pun pe seama diminuării biosintezei proteice în mușchii ce conțin o cantitate mare de fibre contractile, altele nu pot nega nici posibilitatea unei sinteze normale și creșterea catabolismului proteinelor din toate țesuturile gazdă, cel puțin în fazele finale ale bolii, când se instalează cașexia (Teologides, 1979).

Tumorele maligne nu sînt deci complet autonome, ele fiind influențate într-o măsură mai mare sau mai mică atît de gradul de nutriție al gazdei, cît și de activitatea hormonală a acesteia. Se creează în felul acesta un complex de legături între metabolismul tumorii și cel al gazdei (Goodlad, 1973; Teologides, 1979).

Țesuturile tumorale utilizează și proteine plasmatice ca sursă de azot pentru biosinteza proteinelor proprii (Chiricuță, 1974); Mego, 1965). După cum ilustrează fig. 8.4., încorporarea proteinelor plasmatice marcate radioactiv este mult mai specifică țesutului tumoral, decît încorporarea aminoacizilor marcați *in vivo*.

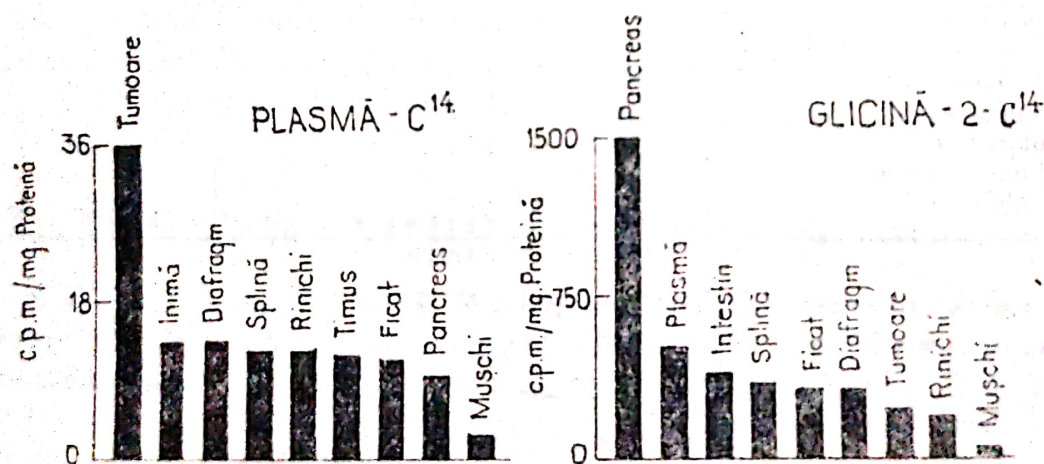


Fig. 8.4. — Compararea activității specifice a proteinelor tisulare la 3 ore după injectarea intravenoasă a proteinelor plasmatice marcate cu ¹⁴C cu activitatea specifică a proteinelor tisulare după injectarea glicinei ¹⁴C (Busch, 1962).

Din cele expuse pînă acum reiese că țesuturile tumorale au o capacitate crescută de biosinteză proteică, ce crește paralel cu accelerarea ritmului de creștere a tumorii (Weber, 1977), tumoarea limitîndu-și în felul acesta reacțiile biochimice la cele esențiale pentru creștere. Căile de catabolizare a aminoacizilor și proteinelor scad în tumori paralel cu ritmul de creștere a acestora. Așa se explică faptul că activitatea unor enzime ce catabolizează amino-

acizii ca triptofan-pirolaza este scăzută în hepatomul cu ritm de creștere lent și foarte scăzută în hepatomul cu creștere rapidă (Potter, 1969). Această tendință de scădere a catabolismului aminoacizilor, care se accentuează cu ritmul de creștere a tumorii, poate fi explicată prin tendința tumorii de a conserva și acumula acești aminoacizi, fondul aminoacizilor liberi totali crescând în

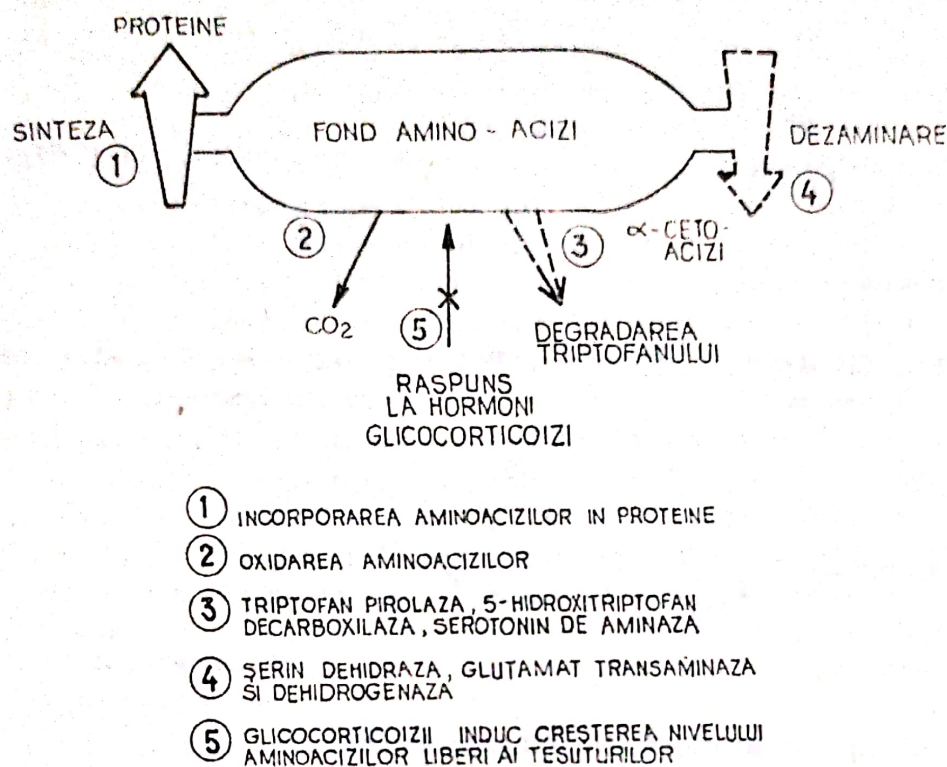


Fig. 8.5. — Metabolismul aminoacizilor și proteinelor cu ritm de creștere diferit

tumoare paralel cu rata de creștere a acesteia. Factorii de reglare hormonală, nutritivi și influența substratelor care induc adaptări metabolice și enzimatică profunde în ficatul normal, au răspuns slab sau nul asupra nivelului aminoacizilor liberi și a activității enzimelor de catabolizare a acestora, într-un spectru larg de hepatoame cu ritm diferit de creștere (fig. 8.5.).

Deci și în cazul metabolismului proteic se creează un dezechilibru metabolic care se corelează foarte bine cu ritmul de creștere a tumorii (Weber, 1976, 1977).

8.2.2.

Poliaminele ca markeri tumorali

Poliaminele participă intim la creșterea, diferențierea și multiplicarea celulară, rolul lor fiind, cum afirmă unii autori, în reglarea sintezei proteice dependentă de ARN (Koch-Wesser, 1981). Sînt cationi organici cu greutate moleculară mică, răspîndite ubicuitar în natură în toate celulele vii. Cele mai cunoscute și mai studiate sînt: putresceina [$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}_2$], spermidina [$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$] și spermina [$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$].

8.2.2.1.

Biosinteza și metabolismul poliaminelor.

Căile de biosinteză a putresceinei, spermidinei și sperminei sînt bine stabilite (fig. 8.6.). În biosinteza poliaminelor participă următoarele enzime: ornitin-decarboxilaza, enzima cheie în controlul întregii căi de biosinteză a poliaminelor, amino-propil-transferaza și anume spermidin-sintetaza și sper-

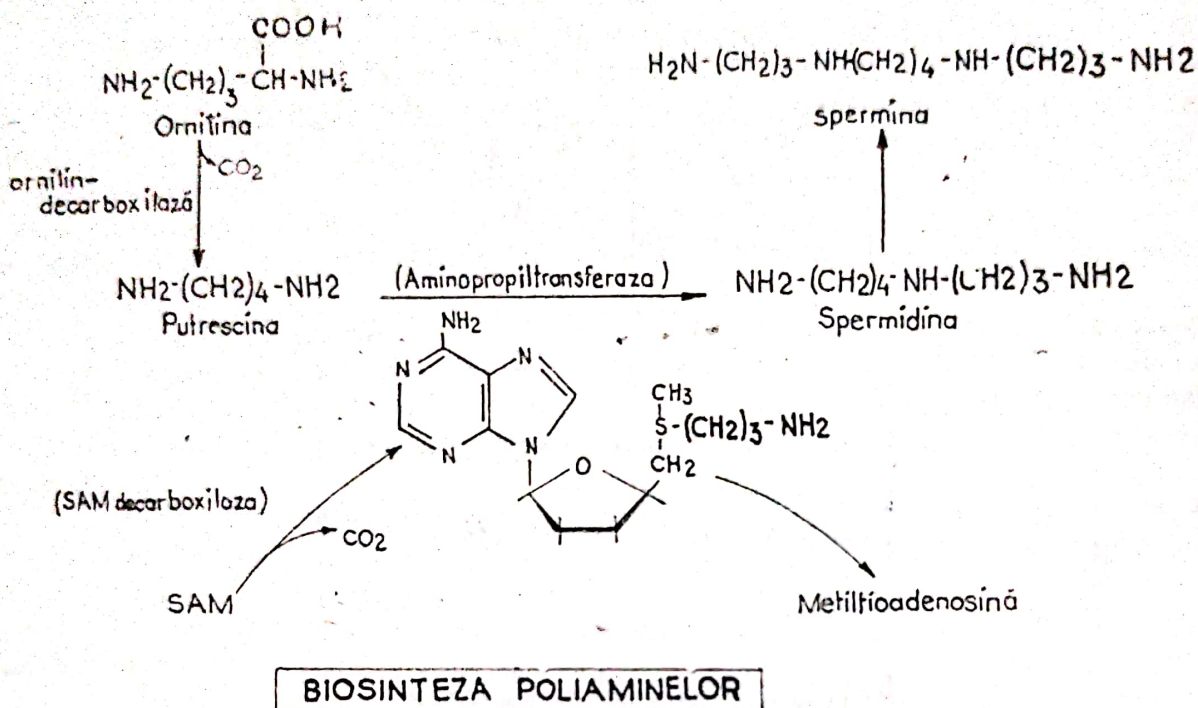


Fig. 8.6. — Biosinteza poliaminelor.

min-sintetaza. Sub acțiunea ornitin-decarboxilazei ornitina este convertită la putresceină. În țesuturile normale adulte activitatea acestei enzime este destul de scăzută. Activitatea ei crește în țesuturile cu creștere rapidă (ficat în regenerare, făt). Pentru convertirea putresceinei la spermidină și a spermidinei la spermină, sub acțiunea amino-propil-transferazelor amintite, mai este nevoie de un cofactor și anume forma decarboxilată a S-adenozil-metioninei (SAM). Enzima care decarboxilează SAM (S-adenozil-metionin-decarboxilaza) este deci foarte importantă și indispensabilă pentru sinteza spermidinei și sperminei. Reglarea acestei enzime la eucariote este efectuată cel puțin în parte de putresceină (Bohuon, 1976).

8.2.2.2.

Relația dintre sinteza poliaminelor, procesele de creștere și cancerul.

După cum se vede pe fig. 8.6. ornitin-decarboxilaza este enzima cheie care guvernează calea de biosinteză a celor 3 poliamine, activitatea ei crescând progresiv cu proliferarea celulelor normale și canceroase. (Bohuon, 1976). Astfel, hepatectomia parțială este urmată de o creștere importantă a activității ornitin-decarboxilazei și a nivelului putresceinei. În ovar, activitatea

enzimei crește în perioada preestrală pînă la ovulație. Injectarea HCG are același efect. De asemenea, castrarea șobolanilor masculi duce la o scădere marcată a activității ornitin-decarboxilazei și SAM-decarboxilazei, nivelul lor revenind la normal după administrarea testosteronului. Aceste date sugerează că metabolismul poliaminelor este hormono-dependent în organele țintă corespunzătoare (Bohuon, 1976). Interesul pentru studierea acestor compuși la bolnavii cu cancer a început în urmă cu un deceniu, cînd Russell și colab. (1971) au constatat că bolnavii cu cancer excretă o cantitate crescută de poliamine în comparație cu subiecții sănătoși. Întrezărirea existenței unei legături între progresia bolii canceroase și eliberarea poliaminelor din tumoare, cu eliminarea crescută a lor în urină, a făcut să apară multe studii asupra modificărilor acestora în multe din lichidele biologice (sînge, urină, LCR), la multe tipuri de tumori solide și leucemii (Russell, 1971; Romano, 1980). Înlocuirea tehnicilor colorimetrice de dozare a poliaminelor cu tehnici analitice mult mai sensibile, cromatografie pe schimbători de ioni cuplată cu fluorimetrie și în ultimul timp cu tehnici radioimune, s-a ajuns la o unitate a rezultatelor obținute în diferite laboratoare.

Cercetările multiple efectuate atît pe animale cu tumori, cît și pe bolnavi cu tumori solide și leucemii, au ajuns la concluzia că la bolnavii netratați moartea și liza spontană a celulelor tumorale duce la niveluri crescute ale poliaminelor în lichidele extracelulare (sînge, urină, LCR). La bolnavii tratați (radioterapie, chimioterapie) distrugerea celulelor ca o consecință a eficienței tratamentului aplicat determină o creștere foarte mare, dar temporară, a eliberării poliaminelor din țesutul tumoral, după care excreția poliaminelor scade, cu revenire la nivelurile normale. Mai multe cercetări susțin că excreția spermidinei poate fi utilizată ca marker al morții celulare în urma unui tratament eficient, în timp ce putresceina ar reflecta reapariția proliferării tumorale cînd aceasta se determină în timpul tratamentului chimioterapic sau radioterapic, fiind un bun indicator al apariției recidivelor (Romano, 1980). De asemenea, enzima care dirijează întreaga cale de biosinteză a poliaminelor, a devenit în ultimii ani ținta unor medicamente care să inhibe activitatea acestei enzime în unele boli proliferative și mai ales în cancer. Rezultatele preliminare sînt destul de încurajatoare (Koch-Wesser și colab. 1981).

8.3.

Glicoproteinele în cancer

Glicoproteinele sînt proteine complexe care conțin în molecula lor hidrați de carbon legați covalent de porțiunea peptidică. Ele îndeplinesc în organism numeroase funcții biologice: funcții enzimatică, hormonală, de transport, rol de susținere și participă la reacțiile imune (Atkinson, 1980). Deoarece în ultimii 10 ani au fost elucidate unele etape din biosinteza glicoproteinelor, rolul unor precursori și sisteme enzimatică în acest proces de biosinteză, vom expune pe scurt etapele biosintezei glicoproteinelor în celula normală.

8.3.1.

Structura, biosinteza și catabolismul glicoproteinelor în celula normală

8.3.1.1.

Structura glicoproteinelor.

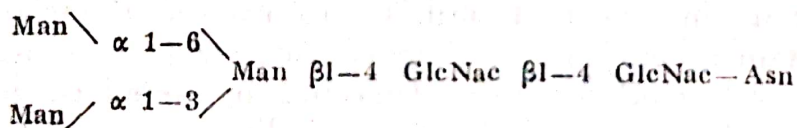
Componentele glucidice care se găsesc mai frecvent în lanțul oligozaharidic al glicoproteinelor sînt în număr de 9 și anume: D-glucoza (mai frecvent întîlnită în collagen), D-galactoza, D-manoza, N-acetil-galactozamina, N-acetil-glucozamina, L-fucoza, acidul sialic cu componenta cel mai des întîlnită, acidul N-acetil-neuraminic (NANA) și, mai rar întîlnite, arabinoza și xiloza. Atașarea lanțului oligozaharidic la proteine se face fie printr-o legătură N-glicozidică, fie printr-o legătură oxiglicozidică (O-glicozidică).

Legătura N-glicozidică se realizează exclusiv între o moleculă de N-acetil-glucozamină din lanțul oligozaharidic și un rest de asparagină din lanțul polipeptidic (GlcNac-Asn).

Legătura oxiglicozidică se realizează cel mai frecvent între resturi de serină (Ser) sau treonină (Thr) din lanțul polipeptidic și o moleculă de N-acetil-galactozamină (GalNac), sau între un rest de hidroxilizină (Hyl) și o moleculă de galactoză (Gal).

Cele mai comune oligozaharide care se întîlnesc în majoritatea glicoproteinelor (atît a celor secretate, cît și a glicoproteinelor de membrană), sînt cele de tipul N-glicozil sau N-acetil-glucozamină-Asn (GlcNac-Asn).

Toate aceste glicoproteine de tip N-glicozil au o structură centrală comună (miez) de tipul (MAN)₃ (GlyNAc)₂-Asn.



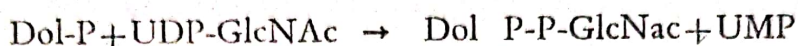
De acest miez se prind fie structuri oligomanozil, tipul simplu sau A, fie structuri ramificate (sialil-alfa-2-3 sau 6-Gal-β1-4-GlcNAc), tipul complex sau N-acetil-lactozaminic sau B). Asemenea N-glicozil-oligozaharide (tipul A și B) se găsesc în ambele glicoproteine și anume în cele secretate, cum ar fi alfa-1-glicoproteina acidă și în glicoproteinele membranale, cum ar fi glicoforina din eritrocite. De asemenea, oxiglicozil-oligozaharidele sînt comune ambelor tipuri de glicoproteine secretate și membranale. Există însă proteine care conțin ambele tipuri N-glicozil, A și B, precum și tipul de legătură O-glicozidică. Aceste structuri hibride se întîlnesc numai în glicoproteinele de membrană.

8.3.1.2.

Biosinteza glicoproteinelor N-glicozidice și O-glicozidice.

Informația genetică necesară asamblării acestor structuri complexe nu este transmisă printr-un mecanism simplu, linear, cum este în cazul acizilor nucleici și proteinelor. În cazul glicoproteinelor există un sistem indirect, complicat, de transfer al informației, care interesează atît sistemul endomembranal al celulei, cît și specificitatea de substrat a glicozil-transferazelor situate

de-a lungul acestor endomembrane. Etapa principală în biosinteza moleculei glicoproteinelor N-glicozidice o constituie sinteza legăturii N-glicozil (GlcNAc-Asn). Sinteza acestei legături este un proces foarte complex, care implică pe de o parte formarea unui oligozaharid mai mare, legat de un intermediar lipidic (dolicol), iar pe de altă parte transferul acestui oligozaharid de pe intermediarul lipidic pe un rest de asparagină din lanțul polipeptidic în stare „născîndă” (Martin, 1981). Dolicolul este un alcool poliizoprenic ce conține 14—21 unități izoprene și se găsește în membrana reticulului endoplasmatic. Prima reacție în formarea intermediarului lipidic glicozilat este:



Pe acest primer (GlcNAc-pirofosforil-dolicol) se sintetizează o structură oligozaharidică asemănătoare tipului simplu, A, cu multă manoză, prezent de obicei în glicoproteine $(\text{Glc})_3-(\text{Man})_9-(\text{GlcNAc})_2$ (Martin, 1981). Dolicol-pirofosfat-oligozaharidul transferă componenta sa oligizaharidică în bloc pe un rest de asparagină al unei polipeptide acceptoare. Reacția este catalizată de enzima oligozaharid-transferaza, enzimă asociată membranei reticulului endoplasmatic rugos. Această transferază va recunoaște și transfera orice glicolipidă cu structura generală $\text{R}-(\text{GlcNAc})_2\text{-P-P-Dol}$. Dolicol-pirofosfatul este convertit la dolicol-fosfat și poate servi din nou ca acceptor pentru sinteza unui alt precursor oligozaharidic legat de lipidă. Polipeptida la care se leagă oligozaharida este încă prinsă de polizomi, pe care a început traducerea informației. Prezența glucozei în lanțul oligozaharidic este indispensabilă pentru ca să aibă loc un transfer eficient, altfel rata reacției scade de 9 ori. Urmează etapa a doua, a prelucrării oligozaharidului, care începe în reticulul endoplasmatic rugos și se continuă în aparatul Golgi (fig. 8.7.).

Toată glucoza și cea mai mare parte din resturile de manoză sînt îndepărtate printr-o serie de reacții specifice efectuate de glicozidaze și glicozil-transferaze. În prima fază are loc îndepărtarea glucozei de către o glicozidază specifică situată în reticulul endoplasmatic rugos. Faza următoare constă în îndepărtarea resturilor de manoză legate în poziția alfa-2. O alfa-2-manozidază a fost descrisă în aparatul Golgi al ficatului de șobolan, dar există dovezi că cel puțin și în ficatul uman există posibilitatea îndepărtării unei părți din manoză în reticulul endoplasmatic. Reacțiile următoare se desfășoară în aparatul Golgi și se referă numai la tipul complex (B) al N-glicozil-oligozaharidelor. Acest tip de proteine glicozilate migrează spre aparatul Golgi printr-un proces de difuziune laterală în planul membranei. Conversiunea acestui compus $(\text{Man})_5-(\text{GlcNAc})_2\text{-Asn}$ la $(\text{Man})_3-(\text{GlcNAc})_2\text{-Asn}$, deci miezul comun tuturor glicoproteinelor cu legătură N-glicozidică, nu poate să apară pînă cînd nu acționează enzima UDP-GlcNAc-transferaza I, care poate dona o moleculă GlcNAc la o porțiune lineară sau ramificată de alfa-manoză pentru a forma legătura $\text{GlcNAc-}\beta\text{-1,2-Man}$. Atașarea primei molecule de GlcNAc este urmată de eliminarea ultimelor resturi de manoză de către o manozidază asociată membranei aparatului Golgi.

Alungirea lanțurilor oligozaharidice implică reacțiile de asamblare a ramificațiilor oligozaharidelor complexe. Transferul componentei glucidice activată anterior în citoplasmă prin reacția generală $\text{NTP} + \text{P-1-glucid} \rightarrow$

$\text{NDP-glucid} + \text{PPi}$ este catalizată de enzime specifice, glicozil-transferaze, care leagă această componentă glucidică la glicoproteina în formare. A doua

transferază, UDP-GlcNAc-transferaza II, va dona componenta sa GlcNAc numai unei structuri ramificate la care a fost legată deja o moleculă de GlcNAc.

Fucozil-transferaza acționează pe produșii Glc-Nac transferazei I și II.

Galactozil-transferaza este una singură și este localizată de asemenea în complexe Golgi. Ea fixează un rest de galactoză de obicei la capătul lanțului sau ocazional la un rest de acid sialic.

Sialil-transferazele (sînt cel puțin 4 sialil-transferaze diferite) se găsesc tot în complexul Golgi și utilizează complexul GMP-acid sialic ca donator pentru sialilarea oligozaharidelor legate de proteine. Resturile sialil se leagă totdeauna de o porțiune subterminală de galactoză, de obicei în pozițiile 2,3 sau 2,6.

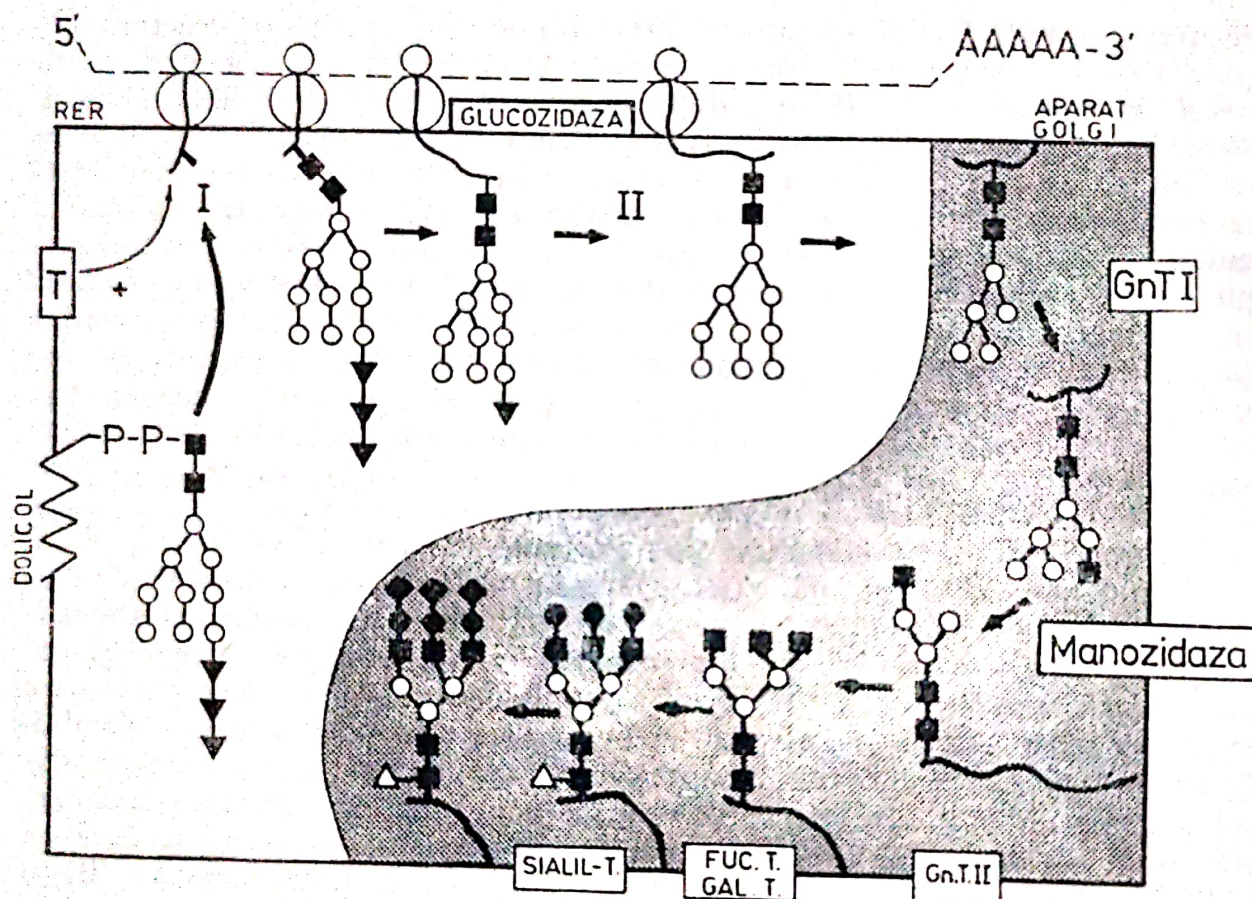


Fig. 8.7. Etapele biosintezei N-glicozil-oligozaharidelor (Schachtl, 1981 modificată).

■ - resturi de N-acetil-glucosamină; ○ - resturi de manoză; ▼ - resturi de glucoză; ● - resturi de galactoză; ◆ - resturi de acid sialic; ▲ - resturi de fucoză.

Întregul proces de glicozilare a proteinelor (I) are loc în reticulul endoplasmatic, iar prelucrarea (II) și alungirea lanțului (III) în aparatul Golgi (fig. 8.7.). Veziculele secretorii sînt formate din complexe Golgi care fuzionează apoi cu o membrană plasmatică. Glicoproteinele secretorii sînt secrete în mediul înconjurător, în timp ce proteinele integrale, membranale, devin componente integrale ale membranei plasmatică.

Biosinteza glicoproteinelor cu legături oxi-glicozidice este mult mai simplă decît cea a glicoproteinelor cu legături N-glicozidice. Nu necesită precursori glico-lipidici și formarea legăturii O-glicozidice se face printr-un transfer simplu al GalNAc din UDP-GalNAc la un acceptor corespunzător.

un lanț polipeptidic cu greutate moleculară mare, care să conțină serină sau treonină. Nu există de asemenea nici etapa de prelucrare a lanțului oligozaharidic ca la primele. Odată legătura Ser(Thr)-GalNac efectuată, are loc adăugarea resturilor de glucide, care depinde în primul rând de glicozil-transferazele specifice prezente în țesut.

8.3.1.3.

Catabolismul glicoproteinelor

Catabolismul glicoproteinelor se desfășoară în lizozomi sub acțiunea glicozidazelor. Exoglicozidazele (neuraminidaza, beta-galactozidaza, alfa-N-acetil-galactozaminidaza, beta-N-acetil-glucozaminidaza, alfa-fucozidaza, alfa-manozidaza) eliberează glucidele terminale nereducătoare. Implicate în hidroliza legăturii glicopeptidice și localizate tot în lizozomi sunt enzimele beta-aspartil-N-acetil-glucozamin-amidohidrolaza și alfa-acetil-galactozaminidaza (Kobata, 1979).

8.3.2.

Modificări ale glicoproteinelor în cancer

Glicoproteinele celulare se găsesc în membrana celulară sau pe membrana celulară, fiind situate cu lanțul oligozaharidic în exteriorul barierei lipidice a membranei. Dacă glicoproteinele se leagă pe membrană, sunt considerate „extrinseci” și pot fi îndepărtate cu soluții saline. Dacă traversează membrana, o parte a lanțului peptidic interacționează cu stratul lipidic al membranei prin legături hidrofobe. Aceste glicoproteine sunt considerate „integrale” și pot fi îndepărtate din membrană cu detergenți. Unele glicoproteine se găsesc în toate sistemele membranale ale celulei, membranele nucleare, mitocondriale, reticul endoplasmatic, aparat Golgi și lizozomi. Alte glicoproteine, cum sunt mucina, proteinele plasmatice și altele se găsesc în formă solubilă atât în celulă, cât și în lichidele extracelulare (Warren, 1980).

Având în vedere această organizare a membranelor celulare, nu este de loc exagerat să se atribuie acestor componente glucidice ale glicoproteinelor și glicolipidelor de pe suprafața celulară un rol important în interacțiunile celulare cu mediul. Astfel, participă la legarea inițială a hormonilor și virusurilor. Proteinele care conțin glucide au funcții importante în adezivitatea intercelulară și în mecanismele de recunoaștere celulară și probabil și în controlul creșterii (Atkinson, 1980; Warren, 1980; Schachter, 1981).

Dacă hidrații de carbon legați de proteine dețin un rol important în procesele de adezivitate intercelulară și în controlul creșterii, atunci se impune examinarea comportamentului acestora în celula canceroasă.

8.3.2.1.

Modificări ale glicoproteinelor celulare în cancer.

Celulele transformate malign prezintă alterări ale membranelor celulare manifestate prin apariția antigenelor de suprafață specifice tumorii, scăderea adeziunii intercelulare, creșterea aglutinabilității cu lectine extrase din plante, alterări ale glicolipidelor și glicoproteinelor (discutate pe larg în continuare) și prin alterarea inhibiției de contact. Asemenea alterări ale suprafeței mem-

branei celulelor transformate malign pot fi manifestarea unui proces general, în care reglarea de către suprafața celulară a fenomenelor metabolice ce stau la baza inhibiției de contact a celulelor este alterată de transformarea malignă. Se știe că receptorii glucidici de suprafață participă la controlul funcției celulare (Warren, 1980). Presupunerile făcute de unii autori că glucidele terminale ale lanțurilor oligozaharidice ale glicoproteinelor și glicolipidelor de suprafață, cum sînt acidul sialic și galactoza, au legătură directă cu receptorii participanți la controlul diferitelor funcții celulare, inclusiv inhibiția dependentă de densitatea creșterii, și-au găsit argumente în rezultatele studiilor ulterioare asupra componentelor suprafeței celulare. Astfel, se cunoaște acum faptul că celulele transformate malign sau celulele în creștere prezintă tulburări ale resturilor glucidice terminale ale lanțurilor oligozaharidice de pe suprafața membranei celulare comparativ cu celulele normale (Weiss, 1973; Warren, 1980). Primele modificări ale componentelor glucide din membrana celulelor transformate malign se referă la cele care însoțesc moleculele de glicolipide ale membranei celulare. Astfel, s-a constatat că glicolipidele celulelor transformate conțin lanțuri noi oligozaharidice care sînt mai scurte și din care lipsesc glucidele terminale nereductoare (Hakomori și colab, 1975). Se pare că enzimele specifice care acționează în procesul sintezei porțiunii terminale a lanțului oligozaharidic al moleculei sînt responsabile, cel puțin în parte, de aceste tulburări în sinteză. Astfel, Itaya și colab. (1976) au arătat că absența sau inactivitatea unei enzime care catalizează transferul unei molecule de N-acetil-galactozamină din UDP-GalNac la hematozidele (N-Glc-acid sialic-Ceramida) și (acid sialic-Gal-Glu-ceramida) are ca rezultat o scădere accentuată a ganglionilor cu moleculă mare.

Alterarea constatată la glicoproteinele membranei celulare din celulele transformate malign și celulele în creștere constă în predominarea moleculelor glicoproteice cu greutate moleculară mai mare. Această alterare se constată mai ales în grupa glicoproteinelor N-glicozidice, tipul simplu și complex, care se separă pe Sephadex G-50, constituind împreună clasa A de glicopeptide (Warren, 1980), iar pe DEAE celuloză în două clase, A și B (Atkinson, 1980).

Cercetări efectuate pe un număr mare de celule maligne au ajuns la concluzia că un număr impresionant de mare de celule maligne prezintă schimbări caracteristice în cîteva grupări glucidice ale glicoproteinelor lor, schimbări independente de tipul de celulă, de agentul cancerigen, de specie și care se corelează direct cu potențialul tumorigen al celulei (Warren, 1980). Se pare că schimbarea survenită în glicoproteinele membranei celulare în celulele transformate malign are loc la legarea hidraților de carbon de restul moleculei glicoproteice, care are drept urmare obținerea unei molecule proteice care conține lanțuri oligozaharidice cu mai multe componente glucidice decît celulele normale.

Această trăsătură, deși comună pentru un număr foarte mare de tipuri de celule maligne, nu este proprie malignității, întîlnindu-se și la celulele în creștere. Fenomenul este mult mai exprimat totuși în celulele maligne în creștere (Warren, 1980). Deci, alterările în componentele glicoproteice ale membranei, deși întîlnite la 80% din tipurile de celule transformate malign sînt cantitative; nu s-a găsit nici o grupare glucidică particulară, tipică, glicoproteinelor celulelor maligne. Însă, în general, este acceptat faptul că în procesul de sinteză a glicoproteinelor din celulele maligne polipeptidele leagă

lanțuri oligozaharidice mai mari decât în celulele normale și conțin mai multe resturi de acid sialic. De aceea, s-a sugerat ideea că diferența majoră, chiar unică, după cum afirmă unii autori, între glicoproteinele celulelor maligne și celulele normale s-ar datora creșterii concentrației acidului sialic în glicopeptidele membranei celulelor maligne.

Deși schimbările lanțului oligozaharidic al glicoproteinelor structurale ale membranei celulare se întâlnesc într-un număr foarte mare de tipuri de celule maligne, este îndoielnică utilizarea acestor modificări în diagnostic. Variațiile naturale ale glicopeptidelor din grupa A în timpul creșterii, deși de amplitudine mult mai mică decât cele găsite în celulele maligne, va compromite acuratețea testului. De asemenea, determinarea activității sialil-transferazei în celulele transformate de virusuri este foarte crescută față de celulele normale, însă alți cercetători nu au găsit această diferență sau au găsit o activitate scăzută a acestei enzime. Diferențele în rezultatele obținute se pot datora acceptorului glucidic utilizat în determinare (Warren, 1980). Există însă studii numeroase, în care se compară nivelul sialil-transferazei din plasma și serul animalelor și oamenilor cu tumori, cu normalul (Clement, 1980). Nivelul activității acestei enzime în serul animalelor sau bolnavilor cu tumori este semnificativ crescut față de normal. Creșterea nivelului acestei enzime din ser se datorește eliberării ei din celulele tumorale. Funcția acestei enzime în ser nu se cunoaște și este destul de limitată, deoarece glucide activate în ser sînt în cantitate foarte mică.

De asemenea, bolnavii cu tumori prezintă niveluri crescute ale fucozil-transferazei și galactozil-transferazei (Chatterjee, 1980). S-a observat că unele din aceste enzime se modifică mai mult în unele localizări ale cancerului.

Avînd în vedere faptul că aceste enzime se găsesc în membranele celulare, unde intervin în mod specific în reacțiile secvențiale de sinteză a lanțurilor oligozaharidice, urmărirea variațiilor acestor enzime în serul bolnavilor cu tumori dau relații privind evoluția bolii, apariția recidivelor și metastazelor și mai ales asupra eficienței tratamentului aplicat. Deci, modificările glicoproteinelor membranei celulare în malignitate sînt valoroase pentru diagnostic, dar mai ales în urmărirea eficienței terapiei prin urmărirea nivelului acestor glicozil-transferaze în serul bolnavilor cu cancer.

8.3.2.2.

Modificări ale glicoproteinelor plasmatice.

Majoritatea glicoproteinelor plasmatice migrează electroforetic cu alfa-1 și alfa-2 globulinele. Ele precipită din ser cu acid percloric 0,6 N și au fost toate incluse de Winzler (1967) sub denumirea de seromucoid. Seromucoidul este o fracțiune proteică heterogenă, ale cărei componente majore sînt următoarele glicoproteine: orosmucoidul sau alfa-1-glicoproteina acidă, zinc-alfa-2-glicoproteina, hemopexina, haptoglobina și 3,5-8-alfa-1-glicoproteina sau anti-alfa-1-tripsina. Două din componentele majore ale seromucoidului, alfa-1-glicoproteina acidă și haptoglobina au fost purificate din plasma normală de om.

S-au efectuat multe studii privind modificările seromucoidului atât la animale cu tumori, cît și la om (Macbeth, 1962, 1964). Creșterea nivelului glicoproteinelor serice este semnificativă față de normal la bolnavii cu

tumori, dar creșteri similare se întâlnesc și în alte afecțiuni cronice necanceroase, ca tuberculoza, reumatismul, afecțiunile renale, biliare etc.

Urmărindu-se biosinteza glicoproteinelor plasmatice cu precursori marcați: ^{14}C -glucozamina, ^3H -fucoza, *in vivo* la animale normale și cu tumori, s-a constatat că locul principal de sinteză al acestora este ficatul. Și alte țesuturi extrahepatice, ca retina, mucoasa gastrică, celulele limfatice pot să contribuie la biosinteza glicoproteinelor circulante, dar cantitatea eliberată de ele este foarte mică în comparație cu ficatul. Studiile cu precursori marcați efectuate pe animale cu tumori prin excluderea ficatului prin ligaturare au evidențiat incorporarea acestor precursori marcați în tumoare și evidențierea glicoproteinelor marcate în plasmă (Macbeth 1973). Deci și tumoarea însăși este capabilă să sintetizeze glicoproteine. Aceste cercetări sînt sprijinite și de altele, efectuate de Silverman și Derner (1977), care au arătat că explante de carcinom uman de sîn sintetizează predominant un grup de glicoproteine cu greutate moleculară în jur de 48 000, care sînt eliberate de celulele tumorale în timpul culturii de organ. Și tumoarea însăși este capabilă să sintetizeze glicoproteine. Punîndu-se astfel problema, urmărirea nivelului unor fracțiuni glicoproteice în ser sau a unor componente glucidice ale glicoproteinelor poate fi utilizată ca indicator biochimic al evoluției bolii, apariției recidivelor și metastazelor, precum și în urmărirea eficienței tratamentului aplicat. Astfel, există studii care arată că dozarea haptoglobinei și orosmucidului la cei cu boală Hodgkin, leucemii, precum și tumori solide, se corelează cu evoluția clinică a bolii, creșterea semnificativă a acestora în ser semnalînd activarea procesului malign (Jayle, 1962; Chiricuță I. și colab., 1979, 1980).

Dozarea acidului sialic în serul bolnavilor cu tumori evidențiază creșterea nivelului acestuia comparativ cu normalul. Dozarea acidului sialic seric s-a dovedit un bun indicator biochimic al malignității în osteosarcom, precum și în diagnosticul diferențial. Din componentele glucidice ale glicoproteinelor serice, fucoza s-a dovedit că se corelează cel mai bine cu malignitatea sînului. Deși nu poate fi utilizată ca un test screening (creșteri semnificative ale acesteia în ser se constată numai în 70% din cazuri), corelarea ei cu examenul clinic și mamografic poate întregi diagnosticul de malignitate al sînului (Rosato și colab. 1970, Mrochek, 1976). Încercările de a găsi markeri biochimici în cancerul de sîn au utilizat ACE, HGG și nucleotidele minore. Din acestea, antigenul carcino-embrionar crește peste limita superioară a normalului la 74% din bolnavele cu cancer de sîn cu metastaze și numai la 30% din stadiile operabile (I și II). În comparație cu aceste determinări laborioase, determinarea unor indicatori biochimici nespecfici, cum ar fi fucoza, a arătat creșteri semnificative ale acesteia în 67% din cazurile studiate în stadiile I și II. (Chiricuță și colab. 1979). Urmărirea în timp a acestor parametri (fucoză și acid sialic) în cancerul de sîn dă relații importante privind apariția recidivelor și metastazelor, anticipînd cu aproximativ 2 luni evidențierea clinică și radiologică a acestora (Chiricuță și colab., 1979).

Deci, determinarea unor componente glucidice ale glicoproteinelor serice, precum și cea a glicozil-transferazelor serice pot fi utilizate în prognosticul bolii și în urmărirea eficienței tratamentului oncostatic aplicat.

8.4.

Metabolismul glucidic în tumori

8.4.1.

Glicoliza aerobă în cancer

(teoria Warburg, efectul Crabtree)

În urmă cu mai bine de 5 decenii, Warburg a semnalat că țesuturile canceroase prezintă glicoliză anaerobă mai mare decât țesuturile normale, precum și prezența glicolizei aerobe evidențiată și *in vivo* prin creșterea lactatului în sângele eferent tumorii. Warburg a afirmat că ceea ce ar caracteriza celula canceroasă ar fi glicoliza anaerobă crescută, prezența glicolizei aerobe și scăderea nivelului respirației. Pe baza acestor constatări, a propus teoria chimică a cancerogenezei, potrivit căreia agenții cancerigeni (virusuri, raze X, cancerigeni chimici) inhibă respirația în mitocondrie și celula ori moare, ori adoptă un mecanism fermentativ din care derivă energia necesară supraviețuirii (Busch, 1962).

Studii ulterioare au demonstrat însă că și țesuturile tinere cu ritm rapid de creștere au activitate glicolitică crescută și nivelul consumului de oxigen nu este alterat (Potter, 1969). De asemenea, s-a demonstrat că și unele țesuturi normale ca retina, leucocitele, rinichiul, medulosuprarenalele și mucoasa intestinală manifestă glicoliză aerobă. Cercetările din ultimii 20 de ani au înregistrat progrese în lămurirea unor aspecte legate de metabolismul glucidic, precum și alte metabolisme în tumori. Acest lucru a fost posibil prin obținerea în 1960 de către Morris de hepatoame induse chimic (cu acid N-2-fluorenil-ftalamic), care prin treceri la linii pure de șobolani au dus la o gamă foarte largă de tumori de transplant. Aceste tumori au avantajul că se aseamănă din punct de vedere morfologic cu țesutul de origine și își păstrează cel puțin în parte unele din caracteristicile metabolice ale țesutului hepatic diferențiat. În felul acesta permite corelarea caracteristicilor biochimice cu gradul de diferențiere a tumorii și ritmul ei de creștere (Morris, 1960; Weber, 1977).

Pe baza gradului lor de diferențiere histologică, Weinhouse (1976) le-a clasificat convențional în trei clase:

- a) hepatoame foarte diferențiate, cu un ritm de creștere foarte lent (3 luni — 1 an);
- b) hepatoame bine diferențiate, cu ritm de creștere ceva mai rapid decât primele (2—6 luni);
- c) hepatoame slab diferențiate, cu ritm de creștere foarte rapid (10 zile — 1 lună).

Studiile biochimice efectuate pe primul tip de hepatoame, denumite de unii cercetători și hepatoame de minimă deviație (Morris, 1960; Potter, 1969) au demonstrat că la acestea există o glicoliză nealterată sau chiar mai scăzută decât la ficatul normal, activitatea enzimelor din lanțul respirator este de asemenea nemodificată, iar calea pentozofosfatică de oxidare a glucozei este utilizată la nivel normal. (Weber, 1967). Totuși, în hepatoamele bine diferențiate și slab diferențiate histologic, cu ritm de creștere moderat și rapid (b și c) se constată o corelație strânsă între ritmul de creștere a tumorii și creșterea glicolizei. Hepatoamele cu ritm de creștere rapid au activitate gli-

colitică mare, cu scăderea respirației la 40—50% din valoarea normală, prezența efectului Crabtree și intensificarea activității căii pentozo-fosfatice (Weber, 1976, 1977).

8.4.2.

Enzimele cheie și reglarea glicolizei

Deoarece enzimele și în special enzimele cheie din căile metabolice au un important rol reglator în celulă, schimbările care survin în activitatea lor și mai ales în profilul izoenzimatic al acestora au o semnificație funcțională importantă. Astfel, s-a constatat că enzimele cheie din calea glicolitică de degradare a glucozei și anume hexokinaza (HK) și fosfofructo-kinaza (PFK) și piruvat-kinaza (PK) cresc o dată cu creșterea ritmului de creștere și de diferențiere a tumorilor hepatice. Pe de altă parte, activitatea enzimelor gluconeogenice cheie ca: glucozo-6-fosfataza, fructozo-6-difosfataza, fosfoenol-piruvat-carboxilaza și piruvat-carboxilaza scad paralel cu creșterea ritmului de creștere și dediferențiere al hepatoamelor (Weber, 1976). Un fapt deosebit de important semnalat recent este schimbarea profilului izoenzimatic al unor enzime cheie din calea degradării glucozei prin înlocuirea izoenzimelor specifice ficatului adult cu izoenzime de tip fetal. Astfel, glucokinaza și piruvat-

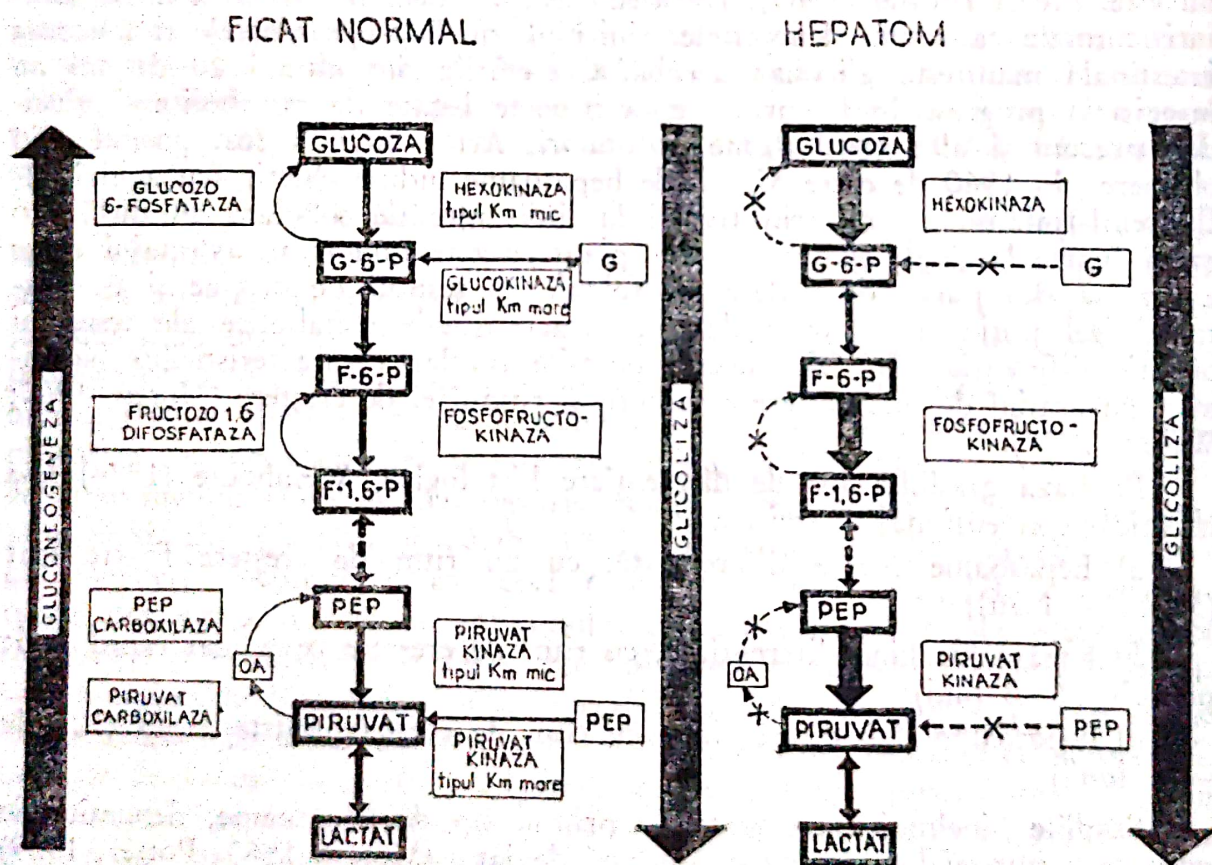


Fig. 8.8. — Modificări cantitative și calitative în metabolismul glucidic în hepatom comparativ cu ficatul normal.

kinaza, specifică ficatului adult, care prezintă o constantă Michaelis mare (K_m mare, afinitate mică față de substrat) sînt înlocuite cu tipuri izoenzimice cu K_m mic. Piruvat-kinaza este o enzimă cheie care acționează într-un punct de ramificare important în metabolismul glucozei (fig. 8.8.). Izoenzima

hepatică adultă (L), puternic alosterică, fiind stimulată de fructozo-difosfat și inhibată de ATP, de asemenea răspunde la reglarea prin hidrații de carbon din dietă sau la acțiunea hormonală (insulina). Izoenzima tumorală de tip fetal, în contrast cu aceasta, nu se supune controlului din partea gazdei (dietă și hormoni) și nici reglării alosterice și are activitatea enzimatică foarte mare. În mod normal piruvat-kinaza necesită ADP ca substrat, deci poate concura pentru ADP cu fosforilarea oxidativă mitocondrială. Deoarece respirația este cuplată strâns cu fosforilarea ADP la ATP, glicoliza dependentă de piruvat-kinază va fi scăzută în condiții de aerobioză, dând naștere efectului Pasteur. În același mod, tipul izoenzimatic fetal al piruvat-kinazei din tumoare poate concura cu succes pentru ADP și aceasta ar explica glicoliza crescută aerobă a tumorii hepatice (Weinhouse, 1976; Ibsen, 1977). Reiese deci că efectul Pasteur, ca și reversul lui, efectul Crabtree (o scădere a respirației prin adăugarea glucozei la celulele care respiră), poate fi atribuită competiției dintre PK și respirație pentru ADP disponibil. Această concepție simplificată privind reglarea glicolizei, nu exclude însă existența altor locuri reglatoare ale căii glicolitice. În orice caz, potrivit acestei ipoteze, activitatea glicolitică mare din hepatoamele cu creștere rapidă, slab diferențiate din punct de vedere morfologic, nu este un factor inițiator în neoplazie, cum credea Warburg, ci mai degrabă este expresia funcțională a unei alterări în compoziția izoenzimatică a enzimelor cheie, legată de progresia neoplaziei („Weinhouse, 1976). Aceleași modificări enzimatică specificate în hepatoamele de transplant s-au semnalat și în hepatomul primar uman, precum și în alte tipuri de tumori renale și de colon la om (Weber, 1981). Întâlnirea acestor modificări calitative și cantitative ale enzimelor din căile de biosinteză și degradare a glucozei concordă cu teoria moleculară a cancerului, care susține că în cancer există o tulburare a mecanismelor care controlează expresia ordonată a genelor în țesuturile diferențiate. Așa s-ar explica de ce în cancer unele căi metabolice și modele izoenzimatică caracteristice activității funcționale ale țesuturilor adulte sînt înlocuite prin căi și modele izoenzimatică proprii țesuturilor în creștere. Astfel se poate explica de ce celulele tumorale adoptă un metabolism glicolitic crescut, ca și țesuturile în creștere rapidă, precum și înlocuirea unor enzime de tip adult cu izoenzime de tip fetal. Se creează în felul acesta un dezechilibru metabolic în cancer, care se corelează foarte bine cu ritmul de creștere a tumorii hepatice (Weber, 1976; Weinhouse, 1976).

Din studiile multiple privind modificările biochimice și de structură ale mitocondriilor țesuturilor tumorale s-a ajuns la părerea că deși mitocondria izolată posedă toate enzimele ciclului Krebs și toate enzimele respiratorii din lanțul transportor de electroni, fiind capabilă să efectueze fosforilarea oxidativă (Fiala și colab., 1967), se constată totuși cu ajutorul microscopiei electronice existența unor alterări ale ultrastructurii mitocondriale și în hepatoamele cu ritm lent de creștere (White și colab. 1974).

În lumina cunoștințelor actuale despre glicoliză, respirație și despre funcțiile mitocondrii și interrelația acestora cu metabolismul hidraților de carbon în celula canceroasă, ipoteza lui Warburg este privită azi prin prisma mecanismelor reglatorii complexe.

8.5.

Metabolismul lipidelor

Lipidele și în special fosfolipidele și colesterolul sînt componentele structurale importante ale membranei celulare și se impunea studierea compoziției și comportamentului metabolic al acestora în celula canceroasă comparativ cu celula normală. De la primele concluzii privind modificările lipidelor în tumori, trase de Haven și colab. (1956) s-au acumulat multe date experimentale privind modificările diferitelor clase de lipide în celula întreagă, precum și în subfracțiunile celulare (membrană, mitocondrii, microzomi). Acest lucru a fost posibil prin perfecționarea tehnicilor cromatografice care permit o mai mare acuratețe în aceste determinări complexe. O nouă revizuire a datelor acumulate în ultimul timp, efectuată de Wood (1976), a subliniat faptul că lipidele tumorale arată diferențe structurale calitative și cantitative față de cele din țesutul normal corespunzător. Majoritatea determinărilor s-au efectuat pe celule provenite din hepatoame de transplant cu grad diferit de creștere, precum și pe hepatoame ascitice, tumoare ascitică Ehrlich. Raportul lecitină/cefalină scade în aceste tumori de transplant, fapt care s-ar datora, cum afirmă unii cercetători, scăderii activității enzimei care metilează lipidele cu etanolamină (cefalina) la lecitină (Figard, 1962; Wood, 1974). Aceasta are drept urmare creșterea concentrației cefalinei în celulele hepatoamelor, precum și în ficatul în cancerogeneză.

O altă modificare cantitativă observată în celulele maligne este creșterea concentrației sfingomielinei, care în unele tipuri de hepatoame de transplant (cele cu creștere rapidă) prezintă valori de 3 ori mai mari decît în celulele normale (Wood, 1974, 1975).

Compararea profilului acizilor grași din fosfolipidele tumorale cu cel al fosfolipidelor din țesuturile normale a evidențiat existența unei distribuții mai puțin selective a acestora în primele (Hostetler, 1976). Creșterea numărului legăturilor olefinice din acizii grași ai fosfolipidelor tumorale cu inversarea raportului acid stearic/acid oleic a fost semnalată în multe tumori hepatice de transplant, precum și în membrana celulelor hepatoamelor de minimă deviație (Wood, 1974).

Creșterea gradului de nesaturare a acizilor grași din fosfolipidele membranelor celulelor tumorale poate să determine modificarea caracteristicilor fizice ale moleculei de fosfolipidă cu repercusiuni importante asupra stabilității membranelor celulare.

8.5.1.

Metabolismul acizilor grași liberi în tumori

Avînd în vedere importanța metabolică a acizilor grași liberi (AGL) în țesuturile normale au fost efectuate studii privind biosinteza, degradarea și controlul biosintezei acestora în țesuturile canceroase. Biosinteza de novo a AGL din acetat, glucoză și piruvat este prezentă și în celulele maligne, dar ritmul acesteia este prea lent pentru a putea satisface cerințele crescute din timpul creșterii tumorale. De aceea, tumoarea utilizează pentru necesitățile ei energetice și de sinteză și acizi grași de la gazdă. În tumoare AGL sînt utilizați în ambele sensuri, sau sînt oxidați, cu producere de CO_2 și apă, sau se esterifică, formînd fosfolipide și lipide neutre. Studiul cinetic al metabo-

lizării acizilor grași marcați în celulele ascitice Ehrlich *in vivo* (Kannan, 1980) a demonstrat faptul că celulele ascitice Ehrlich posedă un mecanism de acumulare selectivă a acizilor grași esențiali, pe care-i utilizează în special pentru esterificare în fosfolipide și lipide neutre. S-a constatat că 90% din acizii grași existenți în lichidul ascitic extratumoral sînt esterificați, formînd în special fosforil-colină. Scăderea oxidării acizilor grași în hepatoamele cu creștere diferită a evidențiat de altfel că aceasta este direct proporțională cu rata de creștere a tumorii (Weber, 1967).

8.5.2.

Metabolismul fosfolipidelor în celula canceroasă

Experiențele efectuate *in vitro* cu P^{32} pe celule ascitice Ehrlich au evidențiat că cea mai mare radioactivitate se găsește în diacil-glicerofosfatide. Studii ulterioare pe subfracțiuni celulare au subliniat că incorporarea P^{32} are loc în special în acidul fosfatidic din fracțiunea microzomială a celulelor (Donish, 1966). Deci și în celulele canceroase acidul fosfatidic reprezintă precursorul principal în biosinteza fosfogliceridelor și locul major de biosinteză în celulă este fracțiunea microzomială. Căile biosintezei fosfolipidelor în celulele ascitice Ehrlich au fost explorate cu ajutorul precursorilor marcați. Astfel, studii cu colină și etanolamină- C^{14} *in vitro* au demonstrat eficiența căii de sinteză citidinnucleotidică și în celulele canceroase (Donish 1966). De asemenea, și calea metilării lipidelor cu etanolamină (cefalina) la lipide cu colină (lecitina) este prezentă și operativă, dar mai puțin eficientă decît în celulele normale.

Cercetări ulterioare au demonstrat că sistemul enzimatic responsabil de metilarea lipidelor cu etanolamină este mai puțin activ în țesutul tumoral hepatic și această scădere evoluează paralel cu creșterea ratei de creștere a tumorii (Weber, 1977).

În ceea ce privește calea biosintezei fosfatidil-etanolaminei prin decarboxilarea fosfatidil-serinei, aceasta nu este eficientă în celulele ascitice Ehrlich, lipsind enzima de decarboxilare, care s-a identificat numai în ficat și unele bacterii (Donish, 1966). Incorporarea precursorilor marcați în fosfolipidele celulelor ascitice Ehrlich crește atît în aerobioză, cît și în anaerobioză, cînd este prezentă glucoza în mediul de incubare. Acest lucru se explică nu numai prin procurarea energiei necesară procesului de biosinteză, ci mai ales prin procurarea alfa-glicerofosfatului. Formarea fosfo-colinei și fosfo-etanolaminei depășește de aproximativ 10 ori încorporarea acestor precursori în fosfolipidele celulei. Fosforilarea rapidă și intensă a acestor baze furnizează celulelor maligne o rezervă de derivați fosforilați, pentru biosinteza fosfolipidelor, ca și pentru alte activități metabolice. Celulele canceroase au proprietatea de a acumula și concentra din economia gazdei, pe lîngă aminoacizi și proteine plasmatice, și fosfocolina și fosfo-etanolamina, avînd astfel o capacitate crescută de sinteză a fosfolipidelor, chiar și atunci cînd nivelul acestora scade în circulație.

Cercetările lui Wood și colab. (1974, 1975) au evidențiat creșterea proporției gliceril-eterilor, comparativ cu țesuturile normale. Gliceril-eterii pot apărea fie ca diacil, tipul trigliceridelor, fie monoacil, tipul digliceridelor sau liberi, tipul monogliceridelor și formele fosfogliceridice sau plasmalogenii. Și la om s-au constatat niveluri crescute ale glicerilesterdiesterilor în unele

tumori maligne (Snyder, 1969). Cum susțin Snyder și colab. (1969), două trăsături biochimice importante în metabolismul lipidic sînt caracteristice neoplaziei și anume: un nivel foarte crescut al glicerileterilor în special în fracțiunea gliceridelor neutre și absența enzimei de clivare a alkileterilor (fig. 8.9.). Se sugerează existența unei interrelații între utilizarea dihidroxi-

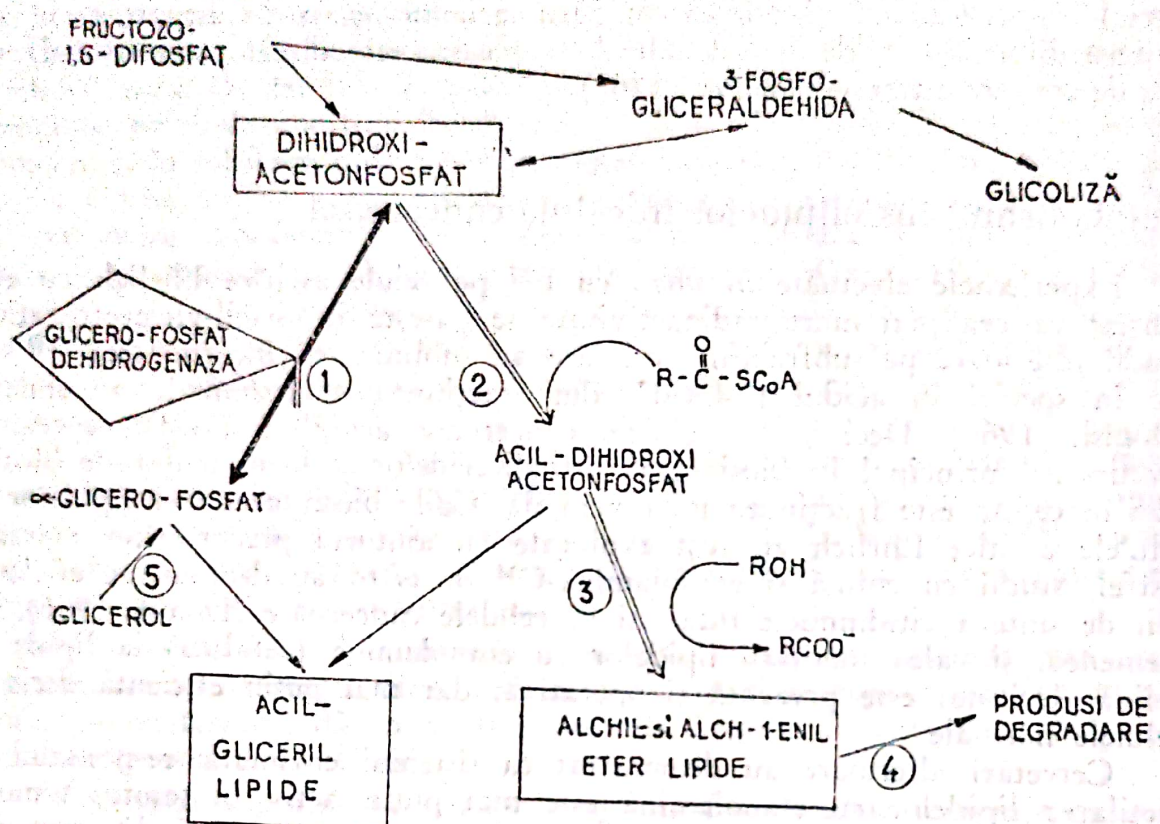


Fig. 8.9. — Căile metabolice urmate în biosinteza glicerileterilor.
Calea 1 alfa-glicerofosfat-dehidrogenaza; calea 2 acil-dihidroxi-acetonfosfatul; calea 3 transformarea acil-dihidroxi-acetonfosfatului în alchil-dihidroxi-acetonfosfat.

acetonfosfatului pentru sinteza lipidelor și nivelul enzimei alfa-glicerofosfat-dehidrogenaza în celulele canceroase. S-a semnalat că nivelul acestei enzime este scăzut în țesuturile maligne, scăderea activității acesteia fiind proporțională cu ritmul de creștere al tumorii (Weber, 1967, 1977). Din fig. 8.9, care ilustrează schematic căile metabolice legate de biosinteza eterlipidelor, se vede că o scădere a activității glicerofosfat-dehidrogenazei poate duce la o creștere a sintezei eterlipidelor.

8.5.3.

Metabolismul colesterolului în tumori

Colesterolul este una din componentele majore ale membranelor plasmatice din celulele mamiferelor. Deoarece proporția colesterolului liber și esterificat constituie 1/4—1/5 din lipidele totale ale membranelor plasmatice din celulă, se poate conchide că utilizarea colesterolului de majoritatea țesuturilor poate fi limitată în esență la sinteza membranelor celulei. Excepție de la această regulă fac ficatul, placenta și unele glande endocrine, care au capacitatea să metabolizeze colesterolul la acizi biliari sau hormoni steroizi.

Din aceste considerente, rolul colesterolului în structura și funcția membranelor este mult discutat în literatură. Unii cercetători subliniază rolul colesterolului în stabilizarea și reglarea fluidității membranelor. În celulele mamiferelor creșterea proporției de colesterol în membranele plasmatiche are repercusiuni grave asupra transportului activ prin membrană prin inhibarea sistemelor enzimatice corespunzătoare. Pe de altă parte, translocarea colesterolului din membrană în celulă va induce alterări în transportul ionilor, care pot să determine tulburări funcționale grave ce se soldează cu moartea celulei. De aici rezultă importanța menținerii unei concentrații fiziologice de colesterol în membranele plasmatiche, pentru asigurarea funcțiilor normale ale acestora (Heiniger, 1976).

În organismele animale biosinteza colesterolului are loc în ficat, și anume în fracțiunea microzomială a celulelor. Este bine stabilit că sinteza *de novo* a colesterolului din acetat este controlată la mamifere și la om de enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril CoA (HMG CoA) care reduce hidroxiglutaratul la mevalonat. În mod normal această enzimă este reglată printr-un mecanism feedback, care atrage după sine sinteza acesteia sau creșterea activității ei. Siperstein și colab. (1966) au constatat creșterea sintezei colesterolului într-un număr mare de hepatoame de transplant, hepatom primar la om și în ficatul pe cale de cancerizare cu substanțe chimice. Au explicat această creștere a sintezei colesterolului în tumorile hepatice prin pierderea mecanismului feedback enzimatic. În ficatul în regenerare enzima răspunde la controlul feedback. Cercetări ulterioare pe leucemii murine spontane, precum și leucemii umane și tumori induse de virusuri, susțin cercetările lui Siperstein, găsind și ele creșterea concentrației colesterolului în aceste tumori față de celulele normale. Creșterea sintezei colesterolului în leucemii este cu 50% mai mare decât în leucocitele normale, unde sinteza colesterolului este foarte scăzută. Experiențe cu acetat marcat susțin de asemenea și în cazul leucemiilor creșterea activității HMG-CoA.

Reproducerea rezultatelor într-un număr mare de cazuri de cancer atrage atenția asupra generalizării acestei trăsături metabolice în cancer. Se pare că acest defect enzimatic nu ar fi legat de proliferare, ci mai degrabă de transformarea malignă a celulelor (Heiniger, 1976).

8.6.

Metabolismul hidro-mineral în celula canceroasă

Distribuția apei și concentrația substanțelor minerale în tumorile maligne a constituit un subiect interesant de studiu, cu importanță mare în determinarea unor caracteristici ale celulelor neoplazice, cum ar fi proprietatea lor de adezivitate și activitatea respiratorie. Se știe faptul că tumorile maligne și țesuturile tinere în creștere (țesutul embrionar) au un conținut relativ mare de apă (79—81%) față de 71% în țesutul normal. Cercetări ulterioare, efectuate de Damadian și colab. (1971) (cit. de Smith, 1981) au demonstrat că timpul de relaxare al protonilor apei în sarcomul Walker și hepatomul Novikoff este semnificativ mai mare decât în țesutul normal de origine. Aceste constatări s-au confirmat și pe alte tipuri de tumori.

Cele mai multe din studiile existente privind relația dintre apă, substanțele minerale și cancerogeneza sînt destul de incomplete (Rossum, 1973). Astfel, Shear și colab. (cit. de Rossum, 1973) afirmă că în tumorile maligne

concentrația potasiului și magneziului este mai mare decât în țesuturile normale și concentrația acestora scade în zonele de necroză. Natriul și clorul cresc în celulele canceroase. Calciul, dimpotrivă, este scăzut în zonele viabile ale tumorii și crește în zonele de necroză. Cercetările ulterioare sînt în concordanță cu cele amintite în ceea ce privește concentrația potasiului în tumori, cu excepția rezultatelor cercetătorilor germani, care îl găsesc scăzut în unele tipuri de tumori (Rossum, 1973; Chiricuță și colab. 1974).

În privința concentrației calciului în țesutul tumoral activ există divergențe. Unii autori au găsit scăderea nivelului acestuia în țesutul tumoral față de cel normal, iar alții au găsit valori normale sau chiar mai crescute. Variația rezultatelor, precum și rezultatele contradictorii obținute s-ar explica pe de o parte prin metodele analitice întrebuițate (metoda flamfotometrică, metode chimice de determinare, iar pe de altă parte prin varietatea histologică a tumorilor experimentale folosite (Smith și colab. 1978, 1981).

Cercetări recente au fost efectuate pe sisteme biologice model (hepatoame cu grad de diferențiere diferit), care permit compararea cu corespondentele lor normale, precum și cu celulele ficatului în regenerare și utilizarea unor tehnici precise (microanaliza cu raze X). În aceste condiții s-a găsit creșterea nivelului Na^+ și Cl^- intracelular în celulele tumorale de două ori mai mare decât în celulele normale. Concentrația Mg^{++} diferă semnificativ față de celulele normale atît în celulele ficatului gazdă, cît și în cele transformate malign. Astfel, nivelul Mg^{++} scade în hepatoame cu 35% în nucleul celular și cu 31% în citoplasmă, în comparație cu hepatocitele normale. Aceste date sînt în concordanță cu cele mai vechi, obținute de Anghileri și colab. (1973). Pentru elucidarea faptului dacă modificarea concentrației acestor electroliți în timpul transformării maligne este legată specific de procesul de oncogeneză sau de proliferarea celulară, s-au făcut experiențe pe linii de celule tumorale cu ritm diferit de creștere, linii celulare cu proliferare rapidă (celule de la nou-născut, timocite), linii celulare care proliferază lent (acini pancreatici, mușchi netezi) și linii celulare normale (Cameron și colab. 1980 (tabelul 8.V.)).

Se constată că nivelul intracelular al Na^+ și Cl^- crește în celulele tumorale semnificativ față de celulele normale, și față de celulele care proliferază rapid. Creșterea nivelului acestor electroliți este semnificativă și între celulele normale cu proliferare rapidă și cele normale cu proliferare lentă. Aceste date experimentale sprijină ipoteza lui Cone (citată de Smith, 1981), privind legătura care există între scăderea potențialului transmembranal (EM), creșterea intracelulară a Na^+ și activitatea mitogenă normală pe de o parte și oncogeneză pe de altă parte. Concentrația K^+ și Mg^{++} din interiorul celulei normale în proliferare rapidă este semnificativ mai mare decât în celulele tumorale. Deci, creșterea concentrației acestor doi electroliți este legată direct de activitatea mitogenă normală și nu se corelează cu activitatea mitogenă din celulele canceroase, nici chiar cu cele în creștere rapidă. Ideea lui Cone că scăderea concentrației K^+ este mitogenă și oncogenă nu este deci sprijinită de datele experimentale ale acestor autori (Cameron 1980; Smith 1971). Modificarea unor electroliți, în special a sodiului și clorului, are deci un rol deosebit în mitogeneză, controlul creșterii și în oncogeneză.

În concluzie, cercetările biochimice multiple efectuate în scopul de a evidenția particularități structurale sau metabolice ale celulei canceroase, particularități care să constituie markeri specifici, unici, pentru celulele canceroase,

TABELUL 8.V

VARIAȚIA CONCENTRAȚIEI INTRACELULARE A UNOR ELEMENTE ANORGANICE (NA, CL, MG, K) CU ACTIVITATEA PROLIFERATIVĂ A CELULELOR
(CAMERON, 1980)

Grupe	Clasificarea populației de celule	Nr.	Concentrația mmol/kg greutate uscată			
			Na	Mg	Cl	K
1	Celule netumorale (hepatocite ficat normal, celule de glandă mamară în lactație)	11	138 ± 11	44 ± 3	142 ± 9	339 ± 13
2	Celule tumorale (2 hepatoame și 2 adenocarcinoame mamare)	8	451 ± 6	44 ± 44	329 ± 17	348 ± 13
	Semnificația (p) a diferențelor dintre grupele 1 și 2:		<0,001	NS	<0,001	NS
3	Celule care se divid rapid (enterocite din criptele intestinului subțire și gros, celule neonatale, timocite)	9	196 ± 12	63 ± 3	206 ± 8	349 ± 5
4	Celule care se divid lent (acini pancreatici, mușchi netezi, hepatocite)	21	140 ± 8	50 ± 3	159 ± 8	389 ± 11
	Semnificația (p) a diferențelor dintre grupa 3 și 4		<0,001	<0,005	<0,001	<0,005
	Semnificația (p) a diferențelor dintre grupa 2 și 3		<0,001	<NS	<0,001	NS

nu au dat rezultatele scontate. Au fost evidențiate în schimb modificări calitative și în special cantitative datorită depresiei unor gene în mod normal „mute”, reprimată în viața adultă. Aceste particularități, luate individual, nu constituie un marker sigur pentru malignitate, dar o constelație de mai multe componente modificate (cantitativ sau calitativ) sugerează prezența malignității și pot să dea indicații prognostice. Probabil că îmbunătățirea tehnologiei de cercetare va crea premisele necesare pentru evidențierea în viitor și a altor modificări mai specifice.

Bibliografie

- ANGHILERI L. J. — *Z. Krebsforsch.*, 1973, 79, 148—156.
 ATKINSON P. H., HAKIMI J. — Alterations in glycoproteins of the cell surface, in: *Biochemistry of glycoproteins and proteoglycans*. Ed. by W. Lennarz, Plenum Publ. Corporation 233, Spring Street, New York, 10 013, 1980, p. 191—239.
 BALHORN R., CHALKLEY R., GRANNER D. — *Biochemistry*, 1972, 11, 1 094—1 098.
 BLITHE D. L., BUEK C. A., WARREN L. — *Biochemistry*, 1980, 19, 3 386—3 395.
 BOHUD C., ASSICOT M. — Polyamines as tumour markers, in: *Cancer related antigens*. Ed. by P. Franchimont North-Holland Publishing Comp., Amsterdam-New York-Oxford, 1976, p. 125—130.
 BOSSMAN H. B. — *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1972, 49, 1 256.
 BUSCH H. — An introduction to the Biochemistry of the cancer cell, Academic Press, New York, 1962, p. 323—350.
 BUSCH H. — *Klin. Wochenschr.*, 1979, 57, 253—256.
 CAMERON I. L., SMITH N. K. R., POOL T. B., SPARKS R. L. — Intracellular concentration of sodium and other elements as related to mitogenesis and oncogenesis in vivo, *Cancer Res.*, 1980, 40, 1 493—1 500.
 CHATTERJEE S. K., BHATTACHARYA M., BARLOW J. J. — *Cancer Letters*, 1980, 8, 247—253.

- SCHACHTER H. — Glycoprotein biosynthesis and processing, in: *Lysosomes and lysosomal storage diseases*, Ed. by John W. Callahan and J. Alexander, Londra, Raven Press, New York, 1981, p. 73-93.
- SILVERMAN L. M., DENNER G. B., TÖKES Z. A. — *Clin. Chem.*, 1977, 23, 2 055-2 058.
- SMITH N. R., SPARKS R. L., POOL T. B., CAMERON I. L. — *Cancer Res.*, 1978, 28, 1 952.
- SMITH N. R., STABLER B., CAMERON I. L., MEDINA D. — *Cancer Res.*, 1981, 41, 3 877-3 880.
- SNYDER F., BLANK M. L., MORRIS H. P. — *Biochim. biophys. Acta (Amst.)*, 1969, 173 502-510.
- SIPERSTEIN M. D., FOGAN V. M., MORRIS H. P. — *Cancer Res.*, 1966, 26, 7-11.
- STEIN G. S., STEIN J. L., THOMSON J. A. — *Cancer Res.*, 1978, 38, 1 181-1 201.
- STEIN G. S., STEIN J. L., KLEINSMITH L. J., THOMSON J. A., PARK W. D., JANS-
ING R. L. — *Cancer Res.*, 1976, 36, 4 307-4 319.
- STUTZMAN L., FITZPATRICK J. E., CHU T. M., SARCIONE E. J. — Clinical laboratory
aspects of cancer, In: *The physiopathology of cancer*, Ed. S. Karger, Basel-München-Londra-
New York, 1976, p. 83-132.
- THEOLOGIDES A. — *Cancer (Philad.)*, 1979, 43, 2 004-2 012.
- WARREN L., FUHRER J. P., BUCK C. A. — *Proc. natl. Acad. Sci. (Wash.)*, 1972, 69,
1 838-1 842.
- WARREN L., BUCK C. A. — *Clin. Biochem.*, 1980, 13, 191-197.
- WEBER G., LEA M. D. — The molecular correlation concept. An experimental and concep-
tual methods in cancer research, In: *Methods in Cancer Res.*, II, ed. by H. Bush, Academic
Press, 1967, p. 523-530.
- WEBER G. — Enzymatic strategy of the cancer cell. *Cancer enzymology*, Academic Press,
New York San Francisco-Londra, 1976, 1976, p. 63-80.
- WEBER G. — *New Engl. J. Med.*, 1977, 296, 486-493.
- WEINHOUSE S. — *Cancer Res.*, 1976, 36, 4 319-4 320.
- WRISS L. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1973, 50, 3-19.
- WOOD R., FALCH J., WIEGAND R. D. — *Lipidis*, 1974, 9, 12, 987-992.
- WOOD R. — *Lipidis*, 1975, 10, 736-745.

2. **Oncogeneză chimică**

OTILIA BOJAN

Cuprins

- 9.1. Istoric — 304
- 9.2. Potențialul cancerigen al unor substanțe chimice (organice și anorganice) — 306
 - 9.2.1. Criterii de stabilire a potențialului cancerigen — 307
 - 9.2.1.1. La animale de experiență — 307
 - 9.2.1.2. La om — 307
 - 9.2.2. Clasificarea substanțelor chimice pe baza potențialului cancerigen — 308
 - 9.2.2.1. Substanțe chimice și procese tehnologice industriale sigur cancerigene la om — 309
 - 9.2.2.2. Substanțe chimice probabil cancerigene la om — 312
 - 9.2.2.3. Substanțe chimice posibil cancerigene la om — 315
- 9.3. Inducerea tumorii — fenomen multistadial — 319
- 9.4. Activarea metabolică a substanțelor chimice la derivații mai reactivi — 323
 - 9.4.1. Electrofilia — proprietate comună a cancerigenilor ultimi — 323
 - 9.4.2. Activarea metabolică a aminelor și amidelor aromatice — 326
 - 9.4.2.1. 2 Acetil-aminofluorenul — 326
 - 9.4.2.2. Alte amine aromatice — 327
 - 9.4.3. Donori potențiali de grupări alchil simple (metil sau etil) — 332
 - 9.4.4. Activarea metabolică a aflatoxinelor B₁ și B₂ — 334
 - 9.4.5. Activarea metabolică a hidrocarburilor aromatice policiclice — 335
- 9.5. Schema generală a mecanismului cancerogenezei chimice — 339

9.1.

Istoric

În etiologia a 70—90% din cancerile umane a fost incriminată intervenția unor factori de mediu, fizici, chimici și biologici. Din aceștia, radiațiile ionizante ar explica numai o proporție minoră din totalul cancerelor umane. Rolul virusurilor, ale căror proprietăți oncogene au fost evidențiate în numeroase modele experimentale, nu a fost documentat încă un mod convingător în oncogeneza umană. În schimb, atât cercetările epidemiologice, cât și studiile de laborator, demonstrează că majoritatea cancerelor umane sînt provocate de expunerea la substanțe chimice (Miller E.C., 1978).

Primele observații asupra rolului posibil al agenților chimici în cancerogeneza aparțin lui John Hill, care în 1761 a sugerat că neoplasmul nazal ar putea fi consecința „prizării” excesive de tutun. Ulterior, medicul chirurg

Percival Pott a semnalat o incidență neobișnuit de mare a cancerului scrotal la bărbați care din copilărie fuseseră coșari. Pe baza observațiilor lui Pott au fost luate primele măsuri de prevenire a cancerelor induse chimic la oameni, asociația coșarilor danezi recomandând membrilor săi să facă băi zilnice.

Alte etape importante pentru consolidarea noțiunii de cancer industrial sînt observațiile germanului Von Volkmann și ale scoțianului Bell, care în anii 1875, respectiv 1876 au subliniat corelația dintre contactul pielii cu gudroane și uleiuri de parafină și apariția cancerelor cutanate. Au urmat apoi observațiile lui Rehn privind dezvoltarea cancerului vezicii urinare la muncitorii din fabricile de anilină din Germania, precum și observații din alte țări cu privire la asocierea cauzală dintre apariția cancerului vezicii urinare la om și expunerea profesională la 2-naftilamină, 4, 4'-diaminodifenil (benzidina) sau 4-aminodifenil.

Toate aceste observații privind incidența crescută a cancerului profesional au stimulat cercetarea experimentală a acestor grupe de substanțe chimice, precum și a unor substanțe chimice înrudite cu ele. Începutul cercetărilor experimentale a fost marcat de studiile japonezilor Yamagiwa și Ichikawa, care în anul 1915 au indus carcinoame ale urechii la iepure prin aplicații topice repetate de gudron. Inducerea cancerului de piele cu gudroane și extracte de gudroane a atras după sine cercetări susținute pentru găsirea produșilor activi ai acestora. Studii chimice efectuate de Bloch și Dreifuss în Germania au sugerat că acțiunea cancerigenă a gudroanelor s-ar datora hidrocarburilor aromatice policiclice pe care le conțin. Dovezile cele mai concludente în acest sens au fost aduse însă de Kennaway, care în 1925 a obținut gudroane cancerigene de sinteză prin piroliza în atmosferă de hidrogen a unor substanțe organice. Prin examinarea unui număr mare de spectre de fluorescență ale hidrocarburilor sintetice pure s-a identificat, 1,2-benzantracenul, ca fiind unul din produșii activi responsabili de efectele cancerigene. Un derivat al acestuia, 1,2,5,6-dibenzantracenul, s-a dovedit apoi că produce cancer prin pensulare îndelungată pe piele sau cînd este injectat în țesuturi. Ulterior a fost izolată din gudroanele de cărbune o altă hidrocarbură cancerigenă și identificată de Cook, Hewett și Hieger ca fiind 3,4-benzpirenul. Au urmat cercetări multiple începute de Kennaway în Anglia și urmate de Shear și Fieser în America, care au încercat să definească însușirile chimice pe care trebuie să le aibă hidrocarburile aromatice policiclice pentru a fi cancerigene la animalele de experiență. Hidrocarburile aromatice policiclice utilizate mai frecvent în studiile experimentale au fost 3,4-benzpirenul, 3-metilcolantracenul, 1,2,5,6-dibenzantracenul și 7,12-dimetil-benzantracenul.

În 1933 Yoshida a obținut tumori hepatice la șobolani și șoareci prin administrare perorală a o-amino-azotoluenului sau a p-amino-dimetil-azobenzenului (galbenul de unt). A urmat apoi inducerea cancerului vezicii urinare la cîinii hrăniți cu 2-naftilamină, ceea ce confirmă experimental acțiunea cancerigenă a acesteia la om.

În felul acesta, datele epidemiologice privind cancerogenicitatea aminelor aromatice și a gudroanelor de cărbune, funinginii și uleiului de parafină pentru omul expus la aceste noxe, au fost completate cu date definitive, experimentale, privind carcinogenicitatea substanțelor chimice pure conținute în aceste amestecuri, asupra animalelor de laborator.

Mai mult, făcând în 1932 primele observații asupra apariției cancerului mamar la șoarecele tratat cu estronă, Lacassagne a deschis larg calea spre cercetarea experimentală a tumorilor induse de hormoni.

Din 1940 încoace, lista cancerigenilor chimici se lărgeste foarte mult. Wilson și Cox au semnalat prima dată în 1941 acțiunea cancerigenă a 2-acetil-aminofluorenilui; studiile care au urmat au subliniat cancerogenicitatea acestuia la numeroase specii animale și tipuri de țesuturi. Ulterior, prin dezvoltarea cunoștințelor în domeniul substanțelor chimice cancerigene, s-a demonstrat că pe lângă cele cu structură aromatică și unele substanțe chimice cu structură alifatică prezintă activitate cancerigenă la animale: etilcarbamatul, tetraclorura de carbon, mustargenul.

Prima demonstrare experimentală a cancerogenității unor substanțe chimice anorganice a fost făcută în 1946 prin inducerea osteosarcomului de iepure cu silicat de zinc și beriliu și oxid de beriliu.

Datele existente din 1950 încoace au evidențiat activitatea cancerigenă a noi clase de substanțe chimice: un număr mare de agenți alchilanți, dialchil-nitrozaminele, etionina și pirolizidin-alcaloizii, precum și un număr mare de substanțe extrase din plante și microorganisme (cicazinel, safrolul, aflatoxinele), care sînt cancerigene la animalele de experiență. În anii din urmă, un număr crescînd de substanțe chimice organice și anorganice sînt testate din punctul de vedere al potențialului cancerigen, prin tehnici moderne de transformare malignă a celulelor în cultură. Aceste tehnici, pe lângă evaluarea acțiunii cancerigene, permit și studierea mecanismelor la nivel molecular, care iau parte la cancerogeneza chimică.

9.2.

Potențialul cancerigen al unor substanțe chimice (organice și anorganice) la om

Studiile sistematice privind etiologia și patogeneza cancerului la om și la animale de experiență au dus la ideea că anumite substanțe chimice sintetice sau naturale care apar în mediul înconjurător (hrană, apă, aer, medicamente) sau din mediul social (fumatul, alcoolul) pot avea un rol important în etiologia cancerului uman. Reducerea incidenței cancerului devine în felul acesta o problemă socială majoră, care ar putea fi parțial rezolvată prin identificarea substanțelor cancerigene și stabilirea nivelurilor de risc ale acestora în mediul înconjurător. În acest scop, în ultimul deceniu, un număr din ce în ce mai mare de substanțe chimice au fost testate pentru acțiunea lor cancerigenă *in vitro*, pe animale de experiență și studiate epidemiologic la om. Volumul mare de date obținute impune o sistematizare a lor, lucru realizat de Agenția Internațională de Cercetare a Cancerului (International Agency for Research on Cancer — IARC) cu sediul la Lyon, în lucrarea intitulată „Monografie asupra evaluării riscului cancerigen al substanțelor chimice la om” în 20 de volume. Specialiștii acestui for internațional au efectuat selecția substanțelor chimice, bazîndu-se pe următoarele două criterii: (a) existența datelor legate de cancerogenicitatea acestor substanțe la om sau animalele de experiență și (b) existența dovezilor privind expunerea omului la aceste substanțe.

9.2.1.

Criterii de stabilire a potențialului cancerigen

9.2.1.1.

La animale de experiență

În cazul unei incidențe crescute a tumorilor maligne la mai multe specii și linii de animale, prin diferite căi de administrare și cu doze diferite, s-a considerat că există dovezi *suficiente* pentru etichetarea acestor substanțe chimice ca fiind cancerigene la animalele de experiență.

Atunci când studiile experimentale au demonstrat că substanța este oncogenă la o anumită specie sau linie de animale și rezultatele nu au fost confirmate și de alți cercetători, durata de expunere la acțiunea agentului cancerigen fiind mai scurtă, perioada de urmărire incompletă și numărul de animale mic, aceste dovezi sînt apreciate ca fiind *limitate*.

În cazul în care cancerizarea a fost observată la o singură specie sau linie animală și cu o frecvență mică (sporadic), dovezile sînt considerate *neconcludente*.

Există și unele cazuri în care, în limitele testelor utilizate, substanțele chimice folosite nu au efect cancerigen; în acest caz dovezile sînt *negative*.

Cele patru categorii amintite nu sînt delimitate rigid, deoarece pe măsură ce apar noi date, o substanță poate să acumuleze suficiente dovezi pentru a trece în altă categorie (de exemplu de la limitat la suficient sau, mai frecvent, de la neconcludent la limitat).

9.2.1.2.

La om

Datele necesare pentru stabilirea cancerogenității unor substanțe chimice la om se pot obține prin următoarele studii:

— raportări individuale de cazuri de cancer la bolnavi care au fost expuși prin profesie la substanțe chimice cancerigene sau procese tehnologice industriale, în cursul cărora se produc compuși cu activitate cancerigenă;

— studii epidemiologice care urmăresc incidența cancerului la o populație dată, în funcție de gradul de expunere în timp și spațiu la un anumit agent cancerigen;

— studii epidemiologice în care bolnavii cu un anumit tip de cancer se compară cu un grup de subiecți fără cancer (martori), pentru a vedea dacă expunerea la presupusul agent cauzal este mai încărcată la cazurile cu cancer;

— studii epidemiologice în care subiecții expuși la presupusul agent cauzal sînt urmăriți în timp, pentru a vedea dacă incidența cancerului la această categorie este mai mare decît la subiecții care nu sînt expuși la acești agenți.

În general este suficient un singur tip de studiu pentru a demonstra existența unei relații între expunerea omului la agentul presupus cancerigen și apariția cancerului. Existența mai multor studii în diferite țări pentru același compus, care să confirme rezultatele sînt de mare ajutor pentru specialiști la aprecierea riscului cancerigen al diferitelor substanțe la om. S-a hotărît ca atunci cînd din studiile epidemiologice și din raportările de cazuri individuale reiese existența unei legături cauzale între expunerea omului la aceste substanțe și apariția cancerului, dovezile să fie considerate ca *suficiente*.

Cînd se presupune că anumiți agenți chimici prezintă efecte cancerigene la om, dar dovezile existente nu sînt suficiente pentru demonstrarea unei

legături cauzale între expunere și apariția cancerului, dovezile sînt etichetate ca *limitate*.

Există, deasemenea, cazuri în care datele calitative și cantitative existente sînt insuficiente pentru a trage o concluzie privind cancerogenicitatea lor la om. Aceste dovezi sînt considerate ca *neconcludente*.

9.2.2.

Clasificarea substanțelor chimice pe baza potențialului cancerigen

Deoarece pînă în prezent nu există criterii obiective de extrapolare a datelor existente privind cancerogenicitatea substanțelor chimice de la animal direct la om, grupul de experți în cercetarea cancerului care au revizuit critic datele existente în cele 20 de volume IARC (Althouse R, 1980) au decis ca atunci cînd dovezile pentru o substanță sînt insuficiente la om, dar există date experimentale suficiente pentru această substanță, aceasta să fie considerată cu risc cancerigen la om. În felul acesta, evaluarea riscului cancerigen al fiecărei substanțe chimice la om se face ținînd seama de ambele criterii: epidemiologic și experimental. Plecînd de la aceste premise, Althouse R. și colab. (1980) au conchis că din cele 442 de substanțe chimice, grupuri de substanțe chimice și procese tehnologice industriale studiate, 54 să fie considerate ca factori de risc pentru om (tabelul 9. I).

TABELUL 9. I

CLASIFICAREA SUBSTANȚELOR CHIMICE CU POTENȚIAL CANCERIGEN LA OM

	Substanțe chimice și procese tehnologice industriale	Dovezi experimentale existente	
		Om	Animal
Substanțe chimice sigur cancerigene (18)	— Arsenul și compușii arsenici anorganici	Suficiente	Neconcludente
	— Azbestul	Suficiente	Suficiente
	— Cromul și compușii anorganici ai Cr	Suficiente	Suficiente
	— 4-Aminobifenilul	Suficiente	Suficiente
	— Benzidina	Suficiente	Suficiente
	— 2-Nagtilamina	Suficiente	Suficiente
	— Benzenul	Suficiente	Suficiente
	— BCME și CMME	Suficiente	Suficiente
	— Clornafazina	Suficiente	Limitate
	— Melphalanul	Suficiente	Suficiente
	— Iperita	Suficiente	Limitate
	— Dietilstilbestrolul	Suficiente	Suficiente
	— Clorura de vinil	Suficiente	Suficiente
	— Funinginele, gudroanele, uleiurile minerale	Suficiente	Suficiente
	— Rafinarea nichelului	Suficiente	Negative
	— Obținerea alcoolului izopropilic	Suficiente	Negative
	— Mineritul hematitel	Suficiente	Negative
	— Obținerea suraminei	Suficiente	Negative
Substanțe chimice probabil cancerigene la om	— Cadmiul și compușii cadmiului	Limitate	Suficiente
	— Nichelul și compușii nichelului	Limitate	Suficiente
	— Clorambucilul	Limitate	Suficiente
	— Ciclofosfamida	Limitate	Suficiente
	— Tio-Tepa	Limitate	Suficiente
	— Aflatoxinele	Limitate	Suficiente
	Sub-grupa A (6)		

TABELUL 9.1 (continuare)

	Substanțe chimice și procese tehnologice industriale	Dovezi experimentale existente	
		Om	Animal
Substanțe chimice probabil cancerigene la om (18)	— Acrilonitrilul	Limitate	Suficiente
	— Auramina	Limitate	Limitate
	— Tetraclorura de carbon	Neconcludente	Suficiente
	— Clorura de dime-tilcarbamoil	Neconcludente	Suficiente
	— Dimetilsulfatul	Neconcludente	Suficiente
	— Oxidul de etilenă	Limitate	Neconcludente
	— Amitrolul	Neconcludente	Suficiente
	— Derivații policlorurați de difenil	Neconcludente	Suficiente
	— Beriliul și compușii săi	Limitate	Suficiente
	— Fier-dextranul	Neconcludente	Suficiente
	— Oximetolona	Limitate	Negative
	— Fenacetina	Limitate	Limitate
	— Cloramfenicolul	Neconcludente	Negative
	— Fenitoina	Limitate	Limitate
	— Fenobarbitalul	Limitate	Limitate
	— Izoniazida	Neconcludente	Limitate
	— Rezerpina	Neconcludente	Neconcludente
	— Triazichinona	Neconcludente	Limitate
Substanțe chimice posibil cancerigene (18)	— Epiclorhidrina	Neconcludente	Neconcludente
	— Cloroprenul	Neconcludente	Limitate
	— N. fenil-2-naftilamina	Neconcludente	Limitate
	— Uleiurile izopropilice	Neconcludente	Neconcludente
	— Tricloretilena	Neconcludente	Neconcludente
	— Stirenul	Neconcludente	Limitate
	— Plumbul și sărurile de Pb	Neconcludente	Limitate
	— Hematita	Neconcludente	Suficiente
	— Clordanul și Heptaclorul	Neconcludente	Negative
	— DDT	Neconcludente	Limitate
	— Dieldrinul	Neconcludente	Limitate
	— Hexaclorciclohexanul	Neconcludente	Limitate

Pe baza dovezilor experimentale și epidemiologice existente pentru fiecare substanță chimică în parte, au fost clasificate în trei grupe de risc:

9.2.2.1.

Substanțe chimice și procese tehnologice industriale sigur cancerigene la om.

Din această grupă fac parte 18 substanțe chimice și procese tehnologice industriale pentru care există suficiente dovezi experimentale și epidemiologice care să susțină legătura cauzală dintre expunerea omului la ele și apariția cancerului. În continuare, vor fi relatate pe scurt datele experimentale și epidemiologice care atestă cancerogenicitatea fiecăreia în parte.

Arsenul și compușii arsenici anorganici au fost utilizați în tratamentul leucemiei micloide (cronice) și al unor leziuni de piele (dermatitele cronice).

Administrația perorală a trioxidului de arsen la șoarece și șobolan și a arseniatului de plumb, calciu sau sodiu la șobolan nu a indus cancer.

La om există o legătură cauzală între apariția cancerului de piele și expunerea intensă la acțiunea unor compuși anorganici cu arsen conținuți în medicamente, apa potabilă sau

în mediul înconjurător. De asemenea, au fost descrise cazuri de cancer pulmonar și hemangio-endoteliioame hepatice după utilizarea medicamentelor cu compuși arsenici anorganici, dar acestea pot fi simple asocieri (Brady J. și colab. 1977).

Azbestul este larg utilizat în industria construcțiilor la prepararea azbocimentului și a altor materiale izolante; de asemenea, se utilizează ca material de fricțiune la piese de ambreiaj, frine pentru automobile și mașini unelte, precum și la confecționarea de îmbrăcăminte ignifugă.

Toate tipurile de fibre de azbest testate sînt cancerigene la șoarece, șobolan, hamster și iepure, producînd mezoteliioame și cancer pulmonar după inhalare, administrare intrapleurală, intratracheală și intraperitoneală.

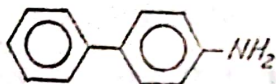
La om, expunerea profesională la azbest determină creșterea incidenței cancerului pulmonar, precum și un risc crescut al apariției cancerului gastro-intestinal și al laringelui (IARC, Monogr., 1977).

Cromul și compușii anorganici ai cromului. Cromul se utilizează la obținerea unor oțeluri inoxidabile rezistente la căldură și coroziune, iar compușii anorganici ai cromului se folosesc în industria coloranților și cea constructoare de mașini.

În funcție de calea de administrare, diferiți compuși ai cromului (oxidul cromic, bioxidul de crom, trioxidul de crom, cromatul de calciu) au indus tumori pulmonare sau sarcoame la șobolani.

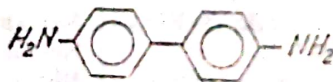
Expunerea profesională la crom reprezintă un important factor de risc pentru cancerul pulmonar la om.

4-Aminobifenilul este folosit frecvent ca antioxidant în industria cauciucului. La animale de experiență, prin administrare orară induce cancer al vezicii urinare la șoarece, șobolan, iepure și cîine.



La om crește incidența cancerului de vezică la muncitorii expuși profesional la 4-aminodifenil.

Benzidina se utilizează în fabricarea unor materii colorante. Este cancerigenă la șoarece, șobolan, hamster și cîine, inducînd carcinoame ale vezicii urinare și tumori hepatice.



Studiile epidemiologice au demonstrat o strînsă legătură între expunerea profesională la benzidină și creșterea incidenței cancerului de vezică urinară.

2-Naftilamina este larg utilizată în industria coloranților și a antioxidantilor. Administrată peroral, induce carcinoame ale vezicii urinare la cîine și maimuță, iar în doze foarte mari la hamster; de asemenea, crește incidența hepatoamelor la șoarece. La alte specii, ca șobolan și iepure, efectul cancerigen al acesteia este slab sau chiar nul.



La om există date epidemiologice și comunicări de cazuri clinice care atestă existența unei legături cauzale între expunerea la 2-naftilamină și incidența cancerului vezicii urinare.

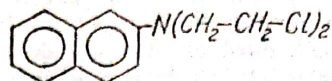
Benzenul (C_6H_6) este utilizat atît ca solvent, cît și ca materie primă pentru industria chimică. Testarea activității cancerigene pe șoarece și pe alte animale de experiență au dat rezultate negative.

Studiile epidemiologice și comunicările de cazuri individuale susțin însă existența unei relații între expunerea profesională la benzen și apariția leucemiei, în special forma nelinfocitară (IARC Monogr., 1974; Rushton și colab. 1981).

Bis(clormetil)eterul (BCME) ($ClOCH_2OCH_2Cl$) și Clormetil-metileterul (CMME) ($ClCH_2OCH_3$) sînt folosiți ca agenți de clormetilare. BCME este cancerigen la șoareci și șobolan prin inhalare și administrare subcutanată. CMME induce sarcoame la șoarece după administrare subcutanată. Există o creștere a incidenței cancerului pulmonar la muncitorii expuși la BCME

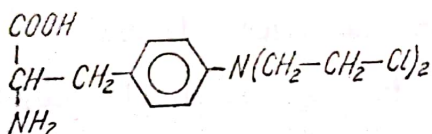
și la produsul tehnic CMME, creștere direct proporțională cu intensitatea și durata expunerii la acești agenți. Tipul histologic întâlnit mai frecvent este carcinomul bronhopulmonar cu celule mici (IARC Monogr., 1974; Cancerul și mediul ambiant, 1980).

Clornafazina (N, N-bis (2-cloretil)-2-naftilamina) este utilizată în clinica umană ca medicament antineoplazic. La animale induce tumori pulmonare după administrare intraperitoneală (șoarece) și sarcoame locale (șobolan) după administrare în injecții subcutanate.



La om crește incidența cancerului de vezică urinară la bolnavii cu policitemia vera tratați cu clornafazină asociată cu fosfor radioactiv, în timp ce la cei tratați numai cu fosfor radioactiv nu se semnalează nici un caz de cancer vezical (IARC Monogr., 1974).

Melfalanul (Sarcolizina) este utilizat în clinica umană ca agent antineoplazic în tratamentul mielomului multiplu, melanomului malign, adenocarcinomului de ovar. Administrat la șoareci, induce cancer pulmonar și sarcoame, iar la șobolani fibrosarcoame mamare.

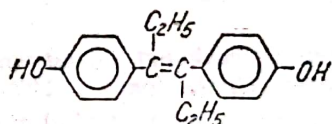


La om au fost semnalate cazuri de cancere secundare, în special leucemii acute, la bolnavii tratați cu Melfalan pentru altă tumoare primară (IARC Monogr., 1975 — Einhorn și colab., 1978).

Iperita sau gazul muștar: S (CH₂—CH₂—Cl)₂ este cancerigenă la șoarece (singura specie testată), inducând tumori pulmonare după inhalare sau injectare intravenoasă și sarcoame locale după injectare subcutană.

La om se constată o creștere a mortalității prin cancere ale căilor respiratorii la subiecții expuși cronic, prin profesie, la acest agent, fapt care nu se întâmplă la cei expuși numai ocazional.

Dietilstilbestrolul se utilizează în tratamentul amenoreelor, al cancerului mamar, de prostată, în tratamentul sindroamelor menopauzale, al osteoporozelor postmenopauzale, precum și ca stimulator de creștere a ovinelor, bovinelor și păsărilor de curte, administrat ca aditiv alimentar. Deoarece au fost reperate resturi de dietilstilbestrol și în unele preparate alimentare derivate de la aceste animale, având în vedere de asemenea proprietatea lui cancerigenă la om, a fost interzisă utilizarea lui ca aditiv alimentar în creșterea animalelor.



Dietilstilbestrolul este cancerigen la șoarece, hamster, broască și maimuță.

Administrarea lui la femei gravide crește riscul apariției cancerului vaginal sau cervical la descendențe, de asemenea există un risc mai mare de apariție a cancerului de endometru la femeile tratate cu acest medicament și de cancer mamar la bărbații tratați cu dietilstilbestrol pentru cancer de prostată (IARC — Monogr., 1974, 1979).

Clorura de vinil (H₂C=CHCl) este utilizată mai ales la obținerea policlorurii de vinil.

Administrată peroral sau prin inhalare, induce carcinom pulmonar, mamar, angiosarcom al ficatului la șoarece și șobolan.

La om crește frecvența angiosarcoamelor ficatului, a tumorilor creierului și sistemului limfopoietic, direct proporțional cu expunerea cronică, prin profesie, la acest agent.

Funingini, gudroane, uleiuri minerale. Toate acestea induc cancer la multe specii de animale de experiență, aplicate prin pensulare pe piele sau administrate în injecții subcutanate.

Datele epidemiologice recente întăresc observațiile mai vechi potrivit cărora expunerea omului zilelor noastre este mai mare la acești agenți și determină apariția cancerului în diferite locuri ca: piele, plămân, vezică urinară și tractul gastro-intestinal. Efectul puternic cancerigen al acestor produși existenți în mediul înconjurător al omului este datorat prezenței hidrocarburilor aromatice policiclice ca principii active, cel mai frecvent întâlnit fiind benzpirenolul (IARC Monogr., 1973; Hammond E. și colab. 1976; Decoufle P., 1978).

Rafinarea nichelului. Datele existente se referă numai la om și arată creșterea incidenței cancerului cavității nazale, plămâni și laringe la muncitorii din rafinăriile de nichel.

Obținerea alcoolului izopropilic. Studiile efectuate în fabricile care produc alcool izopropilic prin procedeul puternic acid și în care apar ca produși intermediari uleiurile izopropilice, au demonstrat incidența crescută a cancerului sinusurilor paranazale la acești muncitori.

Mineritul hematitei. Minerii care extrag minereul de hematită în subteran prezintă o incidență crescută a cancerului pulmonar, în timp ce minerii de la suprafață nu fac cancer pulmonar. Nu se poate preciza încă dacă acest exces de risc se datorează hematitei, radonului (un cancerigen pulmonar cunoscut), inhalării oxidului feric sau siliciului, sau unei combinații a tuturor acestor factori.

Obținerea auraminei. Procedeul de obținere a auraminei expune omul și la alți produși chimici, care apar în procesul de fabricare a acestei substanțe și care fac să crească incidența cancerului de vezică la muncitorii care lucrează la fabricarea auraminei, spre deosebire de cei care lucrează cu auramină finită.

9.2.2.2.

Substanțe chimice probabil cancerigene la om

În această categorie sînt cuprinse alte 18 substanțe chimice, pentru care dovezile existente sînt fie suficiente, fie numai sugestive. De aceea, această grupă de substanțe se divide în două subgrupe: (A) — care cuprinde acele substanțe pentru care există un număr mai mare de dovezi experimentale și epidemiologice care vin în sprijinul cancerogenității lor la om și (B) — care cuprinde 12 substanțe pentru care există un număr mai mic de dovezi în sprijinul cancerogenității lor la om.

Subgrupa A. Cadmiul și compușii cadmiului sînt larg utilizați în industria constructoare de mașini, avioane, industria navală, ca stabilizatori în industria maselor plastice; sulfura și selenura de cadmiu se folosesc în industria coloranților, clorura de cadmiu în industria sticlei etc.

Injectarea subcutană a unor compuși anorganici de cadmiu (clorură, oxid, sulfat sau sulfură de cadmiu) s-a soldat cu producerea de sarcoame locale la șobolani.

Expunerile profesionale la cadmiu (mai ales oxidul de cadmiu) cresc riscul apariției cancerului de prostată la om, datele existente fiind ne semnificative statistic.

Nichelul și compușii nichelului se utilizează ca aditiv în obținerea oțelurilor, la baterea monedelor etc.

Nichelul și compușii săi (oxidul, carbonatul), administrate intramuscular, induc sarcoame la șoarece, șobolan și hamster (IARC Monogr., 1976).

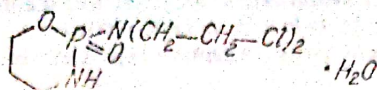
La om există numai date epidemiologice privind riscul apariției cancerului cavității nazale, laringelui și plămînilor la muncitorii din rafinăriile de nichel, specifice la prima grupă de factori de risc.

Clorambucilul este un medicament antineoplazic utilizat în tratamentul unor leucemii și limfoame. La animale, administrarea intraperitoneală induce limfoame la șobolani și limfosarcoame și tumori ovariene și pulmonare la șoarece.



Au fost relatate cazuri de leucemie și alte forme de cancer (renal) la bolnavii tratați cu clorambucil, datele fiind insuficiente pentru afirmarea că acest al doilea cancer s-ar datora numai utilizării acestui medicament (IARC Monogr., 1975).

Ciclofosfamidă: (Endoxan, Clafen) este unul din cei mai utilizați agenți antineoplazici în tratamentul diferitelor forme de cancer: limfoame maligne, mieloame multiple, leucemii, neuroblastoame, adenocarcinoame ovariene, retinoblastoame, cancer mamar, pulmonar etc. De asemenea, se utilizează și ca agent imunosupresor în tratamentul unor afecțiuni nemaligne (artrită reumatoidă, glomerulo-nefrită, lupus eritematos, pneumonie interstițială cronică).

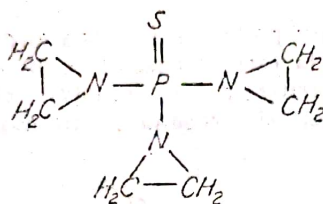


Administrată în doze similare cu cele folosite în clinica umană, ciclofosfamida induce tumori pulmonare, limfo-reticuloame, precum și tumori hepatice și ale organelor de reproducere, sarcoame și carcinoame cu celule scuamoase ale pielii și tumori ale vezicii urinare la șoareci și șobolani.

Au fost semnalate mai multe cazuri de cancer vezical și leucemie mieloidă acută la bolnavii tratați cu ciclofosamidă pentru alte afecțiuni maligne și nemaligne.

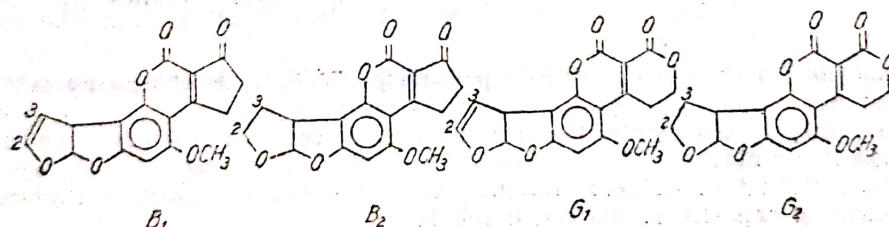
IARC Monogr., 1975, Balbinder E. și colab., 1981).

Tio-TEPA (Trietilen-tiofosfamida) este un antineoplazic folosit cu rezultate bune în special în tratamentul adenocarcinomului mamar și ovarian, limfoamelor maligne, carcinomului bronșic, precum și în tratamentul tumorii Wilms. Are acțiune cancerigenă la șoareci și șobolani, dând o incidență crescută de cancer pulmonar la șoareci și o varietate de tumori maligne la șobolani.



La om au fost raportate 9 cazuri de leucemie în urma tratamentului cu Tio-TEPA, datele fiind însă insuficiente pentru evaluarea riscului cancerigen al acestui compus pentru om.

Aflatoxinele sînt un grup de substanțe înrudite cu difurocumarinele, izolate pentru prima dată din specia de mucegai (*Aspergillus flavus*). Inițial, au fost izolate 4 aflatoxine, la care s-a determinat și structura chimică: aflatoxinele B₁ și G₁ și derivații lor dihidro, B₂ și G₂, care se află în proporție mai mică decît primele. Speciile de mucegai care produc aflatoxine sînt distribuite ubicuitar, făcînd excepție zonele cu climă mai rece, ca nordul Europei și Canada. Cele mai multe lucrări privind contaminarea cu aflatoxine se referă la arahide, făina de arahide, dar s-au pus în evidență și în cereale, porumb, ovăz, grâu, soia, brinzeturi care nu sînt păstrate în condiții de temperatură și umiditate corespunzătoare.



Aflatoxinele sînt cancerigene la șoarece, șobolan, pește, rață și maimuță, administrate pe mai multe căi, inclusiv calea orală și induc în special cancer hepatic, de colon și rinichi.

La om există o corelație pozitivă între media concentrației aflatoxinelor din dieta populației și incidența cancerului primitiv hepatic. Nu există însă date prin studii individuale privind valoarea ingerării cronice de aflatoxine și efectul cancerigen la om. Totuși, ținînd seama de puterea cancerigenă mare a aflatoxinelor la multe specii de animale, precum și cunoașterea distribuției geografice a cancerului primitiv hepatic care se corelează cu expunerea omului la aceste micotoxine, se poate afirma că și omul este sensibil la efectul nociv cancerigen al aflatoxinelor, care se situează cu o probabilitate mare printre factorii de risc.

Subgrupa B cuprinde 12 substanțe chimice pentru care dovezile experimentale și epidemiologice sînt numai aproximative.

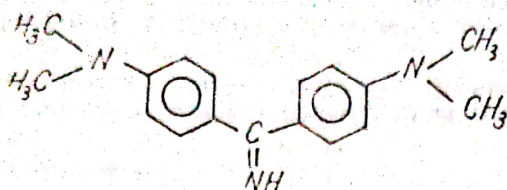
Acetonitrilul (CH₃-CN), utilizat în industria chimică de sinteză (fabricarea fibrelor sintetice și a cauciucului sintetic), este cancerigen la șobolan după administrare perorală și inhalare, inducînd cancer cerebral și gastric.

La om, studiul epidemiologic pe o perioadă de 20 de ani au semnalat creșterea de 4-6 ori a ratei de apariție a cancerului pulmonar la subiecții expuși la această substanță,

dar nu se poate exclude asocierea fumului și a altor substanțe chimice din mediu, ale căror efecte s-ar putea suprapune peste cele ale acrilonitrilului.

Auramina se mai utilizează și în prezent drept colorant pentru hirtie și alte materiale mai puțin durabile.

Administrată peroral, induce tumori hepatice la șoarece și șobolan, dar nu și la iepure și cline.

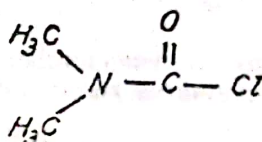


La om, datele care atestă legătura cauzală dintre expunere și apariția cancerului se referă numai la muncitorii care fabrică auramina și nu la cei care lucrează cu produsul finit.

Tetraclorura de carbon (CCl_4) utilizată ca solvent și la umplerea stringătoarelor de incendiu, este cancerigenă la șoarece și șobolan, inducând tumori hepatice după administrare pe diferite căi.

La om, trei studii retrospective pe bolnavi cu cancer descriu tumori hepatice asociate cu ciroză la cei expuși prin profesie la tetraclorură de carbon.

Clorura de dimetilcarbamoi utilizată în industria chimică, induce la șoarece carcinome locale după aplicarea pe piele și sarcoame locale după injectare subcutanată și intraperitoneală.



Datele existente din studiile la oamenii expuși prin profesie la această substanță sînt neconcludente.

Dimetilsulfatul $[(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4]$, utilizat în industria chimică și farmaceutică, este cancerigen la șobolani după inhalare sau injectare subcutanată, inducând tumori locale. La om se semnalează o incidență crescută a cancerului căilor respiratorii la persoanele expuse profesional la această substanță, comparativ cu cei neexpuși, dar diferențele sînt nesemnificative statistic.

Oxidul de etilenă $\text{H}_2\text{C}-\text{CH}_2$ este utilizat în industria chimică și farmaceutică.



La animal nu s-a obținut cancer prin pensularea oxidului de etilenă pe piele sau prin injecții subcutane.

La om se semnalează creșterea riscului apariției leucemiei la subiecții expuși prin profesie la această substanță.

Amitrolul, utilizat ca ierbicid, administrat peroral sau în injecții subcutanate induce tumori tiroidiene și hepatice la șoarece și șobolan.

La om, datele existente semnalează frecvența mai mare a cancerului cu diferite localizări la muncitorii de cale ferată expuși la amitrol, precum și la alte substanțe ierbicide, decît la cei neexpuși cronic la aceste substanțe, diferențele fiind statistic semnificative. Pentru că pe lângă amitrol pot fi implicate și alte substanțe ierbicide, efectul cancerigen în cazul de față nu poate fi atribuit în exclusivitate acestuia, dar nici nu poate fi ignorat.

Derivații policlorurați ai difenilului sînt utilizați ca insecticide. Anumiți derivați clorurați ai difenilului sînt cancerigeni la șoarece și șobolan după administrare pe cale orală, inducînd tumori hepatice.

La om s-a semnalat o creștere ușoară a incidenței melanomului malign la bărbații expuși prin profesie la aceste substanțe.

Beriliul și compușii acestuia sînt utilizați pe scară largă la obținerea aliajelor cu aluminiu, cupru și nichel, de asemenea în industria ceramicii, cristalelor și fibrelor textile. Există dovezi experimentale suficiente pentru afirmarea acțiunii cancerigene a acestora la animale: pulberile de sulfat de beriliu, minereul de beriliu și bertrandită au indus tumori pulmonare la șobolani în urma inhalării acestora. Oxidul și sulfatul de beriliu au indus tumori la maimuță după implantare intrabronșică sau inhalare, iar prin administrare intravenoasă de silicat de beriliu și zinc, fosfat de beriliu și beriliu metal s-au obținut tumori osoase la iepuri.

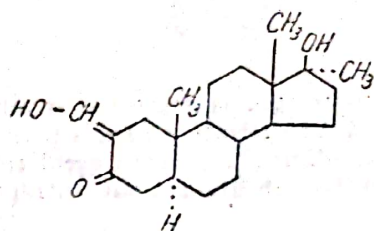
Studiile epidemiologice nu au adus dovezi concludente pentru cancerogenicitatea acestor compuși la om.

Fier-dextranul, medicament utilizat în tratamentul anemiei feriprive, induce tumori locale la șoarece și șobolani după injectare subcutanată și intramusculară.

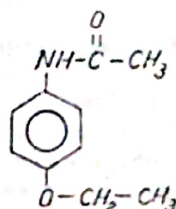
La om s-au semnalat cazuri de sarcoame apărute în locul unde s-a injectat fier-dextran, fapt care atrage atenția asupra riscului utilizării acestuia în clinică.

Oximetolona, medicament anabolizant; nu sînt cunoscute date experimentale pe animal.

La om s-au semnalat cazuri de tumori hepatice la bolnavii tratați cu oximetolona singură sau asociată cu alte medicamente androgene. Frecvența mai mare a tumorilor parenchimului hepatic la bolnavii cu anemie congenitală tratați cu oximetolona, atrage atenția asupra riscului unei terapii îndelungate cu acest medicament în clinică.



Fenacetina este un medicament antipiretic și analgezic. Șobolani hrăniți cu o dietă ce conține fanacetină, dezvoltă tumori ale căilor urinare și nazale. N-hidroxi-fenacetina, un metabolit al acesteia, induce carcinoame hepatice după administrare perorală la șobolani.



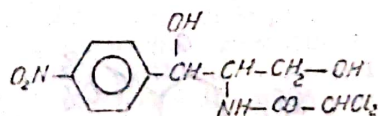
La om fenacetina induce necroză papilară a rinichiului, care ar putea degenera în cancer.

9.2.2.3.

Substanțe chimice posibil cancerigene la om

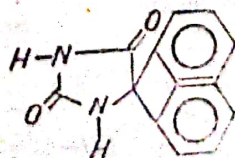
Dovezile experimentale și epidemiologice existente pînă în prezent sînt insuficiente pentru evaluarea cancerogenității lor la om.

Cloramfenicolul este un antibiotic utilizat în special în tratamentul infecțiilor cu Salmonella.



Nu s-au făcut testări care să urmărească efectul cancerigen al cloramfenicolului la animale. La om există cazuri care sugerează că anemia aplastică și depresia medulară provocată de tratamentul de lungă durată cu cloramfenicol pot să genereze ulterior leucemie.

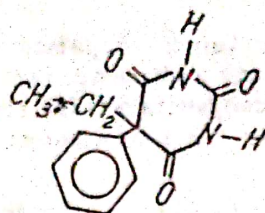
Fenitoina este utilizată în tratamentul epilepsiei (grand mal) și al tulburărilor psihomotorii.



Cancerigenă la șoarece după administrare intraperitoneală sau perorală, induce limfoame și leucemii.

La om s-a constatat o relație între apariția limfoamelor și chimioterapia anticonvulsivă pe termen lung cu fenitoină.

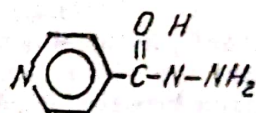
Fenobarbitalul este un medicament utilizat ca hipnotic, sedativ și medicament antiepileptic.



Fenobarbitalul sodic este cancerigen la șoareci și șobolani.

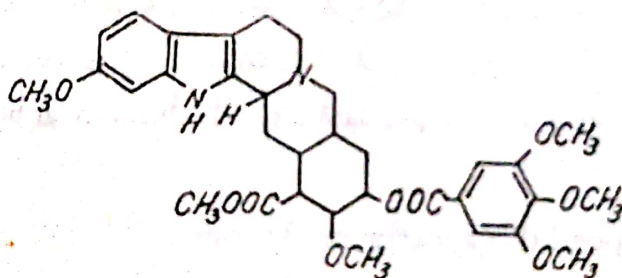
La om datele existente nu sînt suficiente pentru a permite o concluzie certă.

Isoniazida este utilizată în clinica umană ca agent tuberculostatic. Induce cancer la șoarece, după administrare perorală, subcutanată sau intraperitoneală.



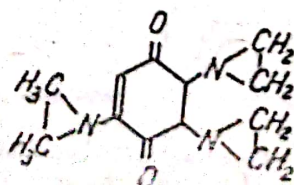
Nu există date care să indice un efect cancerigen la om în dozele terapeutice utilizate.

Rezerpina, medicament hipotensiv, tranchilizant, a fost testată necorespunzător la șoareci și șobolani, prin administrare perorală.



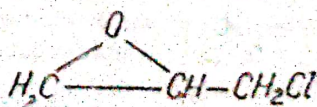
La om, s-a semnalat un risc crescut de apariție a cancerului de sin la bolnavele care au utilizat rezerpina mai mult de 5 ani, rezultatele nefiind semnificative statistic.

Triazichinona este un medicament antineoplazic. Cancerigenă la șobolani după administrare intravenoasă și intraperitoneală, induce o varietate de tumori maligne.



La om nu există date concludente pentru evaluarea cancerogenității substanței.

Epilorhidrina este un solvent pentru rășinile naturale și sintetice. Injectată subcutanat la șoarece, induce sarcoame locale.

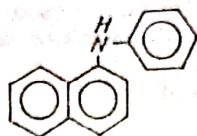


La om se constată o creștere a mortalității prin cancer al căilor respiratorii și leucemii la muncitorii expuși prin profesie la această substanță, dar creșterea este nesemnificativă statistic.

Cloroprenul ($\text{H}_2\text{C}=\underset{\text{Cl}}{\text{C}}-\text{CH}=\text{CH}_2$), este utilizat la obținerea cauciucului sintetic. Testările pe animale de experiență nu au furnizat date concludente.

Studiile epidemiologice privind efectele citogenetice ale cloroprenului asupra muncitorilor expuși prin profesie, precum și asupra soțiilor acestora, au evidențiat acțiunea mutagenă a cloroprenului.

N-fenil-2-naftilamina este utilizată în industria coloranților.



Testată necorespunzător la șoarece prin administrarea perorală sau administrarea unei singure injecții subcutanate; în schimb studiile de biotransformare a N-fenil-2-naftilaminei efectuate la ciine au constatat că 0,02% din aceasta este convertită metabolic în 2-naftilamină, un cancerigen recunoscut.

Datele obținute din studiile epidemiologice sînt contradictorii, neputîndu-se face pe baza acestor date o apreciere corectă a riscului cancerigen al acesteia la om. Totuși există dovezi limitate la observațiile efectuate pe un număr mic de voluntari (19) că 0,03% dintr-o doză unică de 10 mg / doză de N-fenil-2-naftilamină este convertită la 2-naftilamină, un cancerigen recunoscut al vezicii urinare la om.

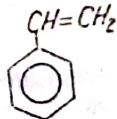
Uleiurile izopropilice sînt produși intermediari în fabricarea alcoolului izopropilic. Au fost testați necorespunzător la șoareci, prin inhalare, aplicații pe piele și administrarea subcutanată.

La om (vezi fabricarea alcoolului izopropilic — secțiunea 9.2.2.1.).

Tricloretilena ($\text{Cl}_2\text{C}=\text{CHCl}$) este utilizată ca solvent în industria chimică. Cancerigenă la șoarece, după administrare perorală induce carcinom hepato-celular și tumori pulmonare.

La om nu s-a constatat vreo creștere a mortalității prin cancer la subiecții expuși profesional la tricloretilenă.

Stirenul utilizat la fabricarea cauciucului sintetic, induce tumori pulmonare la șoarece după administrare perorală. La oamenii expuși profesional la stiren, benzen și butadienă, au fost semnalate 3 cazuri de leucemie și 2 de limfom.



Plumbul și sărurile de plumb sînt larg utilizate în industria constructoare de mașini, industria coloranților, sticlei, tipografiilor etc.

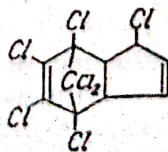
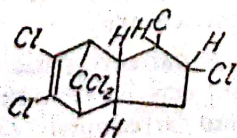
Administrarea perorală a acetatului de plumb determină apariția tumorilor renale benigne și maligne la șobolani și șoareci.

Nu există dovezi certe că expunerea la săruri de plumb ar determina apariția de tumori maligne la om (raportîndu-se un singur studiu care susține existența unei relații între expunerea la plumb și apariția cancerului). (Althaus și colab. 1980).

Hematita (Fe_2O_3), administrată sub formă de inhalații sau intratraheal, nu induce cancer la hamsteri și șoareci sau cobai.

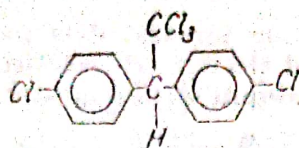
Expunerea profesională la pulberea de hematită constituie un factor de risc în apariția cancerului pulmonar, dar numai pentru muncitorii care lucrează în subteran, nu și pentru cei care lucrează la suprafață (vezi sec. 9.2.2.1.).

Clordanul și Heptaclorul sînt utilizați ca insecticide. Administrați pe cale orală la șoareci induc tumori hepatice.



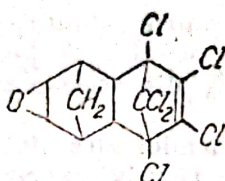
La om, din 14 cazuri de neuroblastom la copii, 5 au fost expuși pre- sau postnatal la clordan, de asemenea s-au semnalat cazuri de leucemii acute la persoane expuse în antecedente la clordan.

Triclor-2,2-di(4-clorfenil)etan (DDT) este utilizat ca insecticid.



Induce tumori hepatice la mai multe linii de șoareci în administrare perorală. Administrarea subcutanată la șoareci a fost prea limitată ca să se poată trage vreo concluzie. Datele existente la om nu sînt concludente.

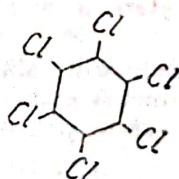
Dieldrinul este utilizat ca insecticid.



Administrat în dietă la șoareci și șobolani a dus la formarea tumorilor hepatice la șoarece, din care unele au și metastazat. S-a observat un răspuns doză-efect la ambele sexe, cu o creștere a incidenței tumorale la femele.

Datele epidemiologice existente sînt insuficiente pentru a demonstra riscul cancerigen al expunerii omului la dieldrin.

Hexaclorciclohexanul este utilizat ca insecticid. Șoarecii hrăniți cu hexaclorciclohexan în dietă dezvoltă tumori hepatice.



La om nu s-au putut efectua studii epidemiologice; totuși, au fost semnalate cazuri de ciroză și hepatită cronică, anemie aplastică, leucemie după expunere cronică la hexaclorciclohexan (IARC Monogr., 1979).

Așa cum am mai specificat, această clasificare nu este rigidă, putîndu-se schimba pe măsură ce se acumulează noi informații. De asemenea, trebuie foarte bine cîntărit dacă unele medicamente indispensabile în alte afecțiuni (de exemplu rezerpina, utilizată în tratamentul hipertensiunii arteriale) să fie scoase din uz sau nu, deoarece riscul decesului prin aceste boli este mai mare decît prin cancer. La fel se pune problema și în cazul unor substanțe chimice cu risc cancerigen. Astfel, acrilonitrilul, o substanță chimică indispensabilă fabricării fibrelor sintetice, este manevrat de un număr restrîns de oameni, în timp ce fibrele sintetice provenite din această substanță și care nu prezintă nici un fel de risc cancerigen, sînt larg utilizate. Muncitorii din fabricile care utilizează acrilonitrilul pot fi protejați de efectele nocive ale acestuia, prin utilizarea mijloacelor de protecție corespunzătoare.

Este necesar ca studiile cu privire la cancerogenicitatea substanțelor chimice să fie prelucrate în continuare de experți în domeniul cancerogenezei chimice și epidemiologiei cancerului și aceste informații să fie accesibile specialiștilor în scopul luării de măsuri pentru prevenirea primară a cancerului.

Inducerea tumorii — fenomen multistadial

Metodele clasice de inducere a tumorilor experimentale prin substanțe chimice utilizau administrarea unui singur agent cancerigen, cel mai adesea în mod repetat și care aveau drept urmare apariția tumorilor benigne sau maligne sau a ambelor.

Berenblum a semnalat în 1941 că uleiul de croton extras din semințele de *Croton tiglium* are proprietăți cocancerigene, adică atunci când se administrează concomitent cu agentul cancerigen și în mod repetat, rezultă un număr mult mai mare de tumori decât atunci când se administrează numai agentul cancerigen singur.

Cîteva ani mai tîrziu, Mottram și colab. (1944) au constatat că administrarea unei doze subcancerigene unice dintr-un cancerigen chimic, urmată de aplicări repetate ale uleiului de croton o perioadă de săptămîni sau luni, face ca incidența tumorilor pielii la animalele de experiență să fie la fel de mare ca în cazul constatat de Berenblum.

Cercetări ulterioare, efectuate în laboratoarele lui Berenblum (1947), Van Duuren (1964) și Boutwell (1978) au perfecționat aspectele biochimice și moleculare ale sistemului bistadial de producere a tumorilor epidermei la animalele de experiență prin cancerigeni chimici. Astfel, Berenblum a pus bazele teoriei multistadiale a oncogenezei în general. Astăzi este recunoscut faptul că oncogeneza este de cele mai multe ori un proces multistadial, determinat de agenți cancerigeni și influențat de promotori tumorali (Berenblum și colab., 1979).

Producerea cancerului în epiderma de șoarece în sistemul model inițiat de Berenblum se face în cel puțin două etape distincte, denumite de el inițiere și promovare și care pot fi studiate separat. Astfel, Berenblum și colab. (1969, 1979) au demonstrat experimental că administrarea unei doze unice, sub pragul cancerigen, dintr-o substanță sigur cancerigenă (hidrocarburi aromatice policiclice, agenți alchilanți, etilcarbamat) pe pielea animalelor de experiență induce modificări în cîteva celule, care nu sînt perceptibile dacă tratamentul cu agentul cancerigen nu se continuă, neducînd la dezvoltarea tumorii. Această primă etapă a cancerogenezei chimice a fost denumită „inițiere” și poate fi efectuată numai de o substanță chimică sigur cancerigenă. Modificarea la nivel molecular indusă de acești agenți cancerigeni, inițiatori, este ireversibilă, se petrece rapid și poate rămîne neexprimată o perioadă lungă de timp (Miller, 1978, 1980; Berenblum, 1979, 1980). Deci, mai mult ca probabil, modificarea indusă de majoritatea substanțelor chimice cancerigene la nivel molecular (ADN) este structurală, genetică.

Pe de altă parte, a doua etapă a cancerogenezei chimice — promovarea — favorizează (în anumite condiții fiind chiar necesară) exprimarea modificărilor care rezultă în decursul procesului de inițiere. Promovarea are loc după o perioadă de săptămîni sau luni de la acțiunea de inițiere a agentului cancerigen; ea nu este ireversibilă, ci mai degrabă poate fi reversată în anumite împrejurări.

Cei mai mulți din agenții cancerigeni cunoscuți sînt capabili să inducă ambele etape ale cancerogenezei, inițierea și promovarea, fiind denumiți cancerigeni compleți. Dar aceiași cancerigeni compleți administrați în doze mici și unice, acționează numai ca inițiatori ai procesului tumoral. Numai în doze

mari și administrați repetat cancerigenii compleți sînt și inițiatori și stimulanți ai dezvoltării tumorii (Boutwell și colab., 1978; Pitot și colab., 1980).

Etape de promovare a procesului tumoral poate fi deci efectuată atît de cancerigeni compleți, cît și de substanțe necancerigene prin ele însele, denumite promotori tumorali. Agentul promotor clasic, utilizat prima dată de Berenblum ca factor cocancerigen, a fost uleiul de croton. Studii ulterioare, efectuate la laboratorul lui Hecker (1968) și al lui Van Duuren (1969) au dus la separarea compușilor activi ai acestuia și prin caracterizarea lor structurală s-a constatat că sînt forbol-diesteri. Unul din cei mai potenți promotori pentru tumorigeneza pielii de șoarece s-a dovedit că este 12—O—tetradecanoil-forbol-13-acetat (TPA) sau forbol—12—miristat—13—acetat (fig. 9.1).

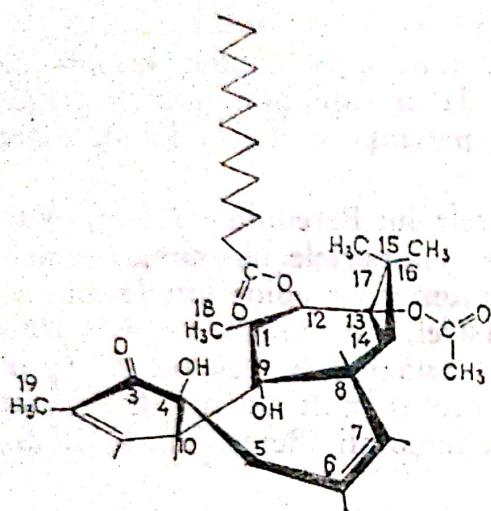


Fig. 9.1. — Structura 12-O-tetradecanoil-forbol-13-acetatului (TPA), un promotor puternic în cancerogeneza epidermei de șoarece (Miller, E. C., 1978).

Cercetările efectuate de Boutwell și colab., (1978) și Steinbeck și colab. (1978) au constatat că administrarea în doză unică a unui cancerigen complet (7, 12-dimetilbenzantracen—DMBA), urmată de administrarea repetată a unui promotor (TPA) duce la dezvoltarea unui număr tot atît de mare de tumori și necesită o cantitate de 20 de ori mai mică de DMBA, decît dacă s-ar administra singur. În fig. 9.2. sînt ilustrate cîteva trăsături esențiale ale cancerogenezei chimice în 2 etape.

Reiese deci că forbol-esterii, deși necancerigeni prin ei înșiși, sînt capabili să inducă tumori în țesuturile țintă pretratate cu doze mici de cancerigeni, care singure nu sînt suficiente pentru dezvoltarea tumorilor. Efectele forbol-esterilor au fost testate și în alte sisteme în afară de epidermă, precum și în culturi de celule, rezultatele fiind similare cu cele specificate anterior. (Diamond și colab. 1980; Fukuda, 1981).

În concluzie, promotorii tumorali cresc incidența tumorilor și se crede că ei joacă de asemenea un rol foarte important și în formarea tumorilor în alte țesuturi animale și chiar umane (Pitot și colab., 1980).

Astfel, cercetări mai recente au demonstrat că aceste două etape, inițiere și promovare, nu sînt caracteristice numai cancerogenezei epidermale. Există în prezent dovezi suficiente pentru prezența procesului în două etape și în patogeneza altor forme de neoplazii la animalele de experiență. Un sistem bistadial de formare a tumorilor hepatice a fost introdus prima dată de Peraino și colab. (1973). Ei au administrat o perioadă limitată de timp 2-acetil-amino-fluoren (AAF), urmată de administrarea pe termen lung a fenobarbitalului. Rezultatul acestui tratament a fost creșterea incidenței carcinoamelor hepatice

diferențiate. Tratatamentul efectuat numai cu 2-acetil-aminofluoren induce câteva tumori hepatice, dar administrarea numai a fenobarbitalului nu induce deloc tumori sau dă o incidență scăzută a tumorilor după o perioadă de latență foarte lungă (Pitot și colab., 1980).

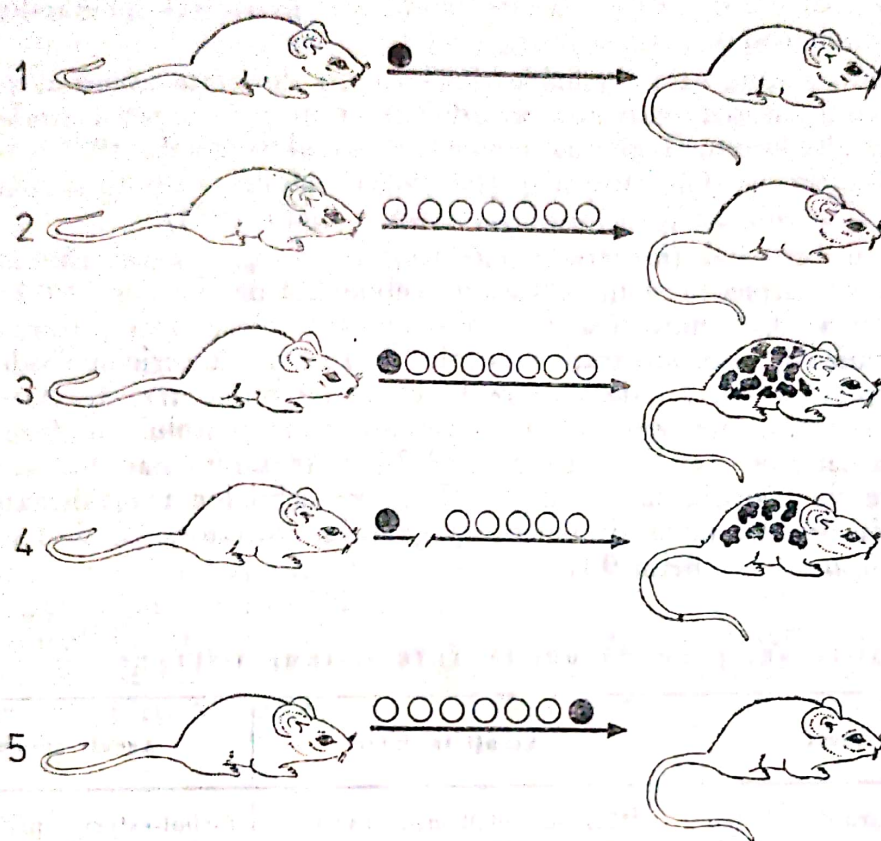


Fig. 9.2. — Diagrama cancerogenezei chimice în epiderma de șoarece

1 — inițiator (DMBA) administrat în doză unică și sub pragul cancerigen nu induce tumori în timpul experimentului; 2 — promotor (TPA), administrat seriat, nu induce tumori; 3 — administrarea cancerigenului (DMBA) urmată de administrarea seriată de TPA duce la dezvoltarea unui număr mare de tumori; 4 — administrarea DMBA (și după un interval de câteva luni pînă la un an se administrează seriat TPA) duce de asemenea la dezvoltarea unui număr similar de tumori ca în punctul 3; 5 — inversarea secvenței adică administrarea prima dată a promotorului (TPA), urmată de administrarea inițiatorului (DMBA) nu duce la dezvoltarea tumorilor.

S-au adus mai multe modificări acestui sistem. Astfel, Pitot și colab. au obținut carcinoame hepato-celulare după un an de la administrarea unei doze unice de dietil-nitrozamină (5 mg/kg) la șobolani parțial hepatectomizați. La aceștia se administrează după 2 luni fenobarbital zilnic în dietă. Ficatul acestor șobolani conține un număr de grupuri de celule („foci”)* care se deosebesc de celulele parenchimului hepatic normal numai histochimic și nu morfologic.

Se recunosc față de celulele normale prin absența detectării prin tehnicile histochimice utilizate a glucozo-6-fosfatazei sau a ATP-azei canaliculare și

* „foci” = un grup omogen de celule conglomerate, care sînt foarte asemănătoare între ele și prezintă diferențe față de restul celulelor din jur. Aceste diferențe pot fi multiple sau relativ reduse și caracterizează populația de celule din foci, fiind din acest motiv denumite markeri.

prin creșterea gamma-glutamil-transpeptidazei. Rezultă deci că celulele din acești foci diferă de celulele normale din parenchimul hepatic prin acești markeri enzimatici. În ficatul șobolanilor care au primit numai doza unică de dietil-nitrozamină se observă foarte puține grupuri de celule alterate histochimic și sînt foarte rar întîlnite aceste modificări în ficatul șobolanilor hrăniți numai cu fenobarbital.

Deși mai puține ca în primele două cazuri discutate anterior, (epidermă și ficat), există totuși dovezi pentru inducerea tumorilor experimentale în două etape și în alte țesuturi: glanda mamară (Cassell și colab., 1971; Armuth și colab., 1974), tiroidă (Christov și colab., 1975), plămîn (Armuth și colab., 1972; Nittesheim și colab., 1975), colon (Narisawa și colab. 1974).

Procesul bistadial (inițiere-promovare) al cancerogenezei chimice a fost demonstrat de asemenea și în culturi de celule (Lasne și colab. 1977; Mondal și colab., 1976). Cercetătorii au demonstrat că tratarea unei culturi de celule cu o doză unică și în concentrații mai mici de $1\mu\text{g}$ de cancerigen (hidrocarbură aromatică policiclică), nu dă naștere la clone de celule transformate malign. Dacă culturile sînt însă supuse în continuare tratamentului cu doze repetate de 12-tetra-decanoil-forbol-13-acetat (TAP), apar un număr foarte mare de clone de celule transformate malign. Numărul celulelor transformate malign depinde atît de cantitatea și structura agentului inițiator, cît și de structura agentului promotor (tabelul 9.II).

TABELUL 9.II

INIȚIATORI ȘI PROMOTORI ÎN ALTE SISTEME TISULARE

Țesut	Agenți inițiatori	Agenți promotori
Glanda mamară de șobolan Tiroida de șobolan Plămîn de șoarece Colon de șobolan	7,12-dimetilbenzantracen 2-acetilaminofluoren uretan N-metil-N-nitro-N-nitrozoguanidina metil-nitrozouree 2-naftilamină 3-metilcolantren	forbol-esteri, prolactină metiltiouracil hidroxitoluen acid litocolic zaharină triptofan forbol-esteri
Veziică urinară de șobolan Veziică urinară de cîine Fibroblaști de embrion de șoarece (cultură)		

Pe lîngă aceste dovezi experimentale, există date care susțin că procesul oncogenezei în două etape are loc și în timpul dezvoltării cîtorva tipuri de cancere la om. Astfel, teoria cancerogenezei bistadiale a lui Berenblum poate explica creșterea incidenței cancerului pulmonar în rîndul muncitorilor care lucrează cu azbest și care sînt și fumători. Întreruperea fumatului la acest grup de muncitori scade mult incidența cancerului pulmonar, deci în acest caz fumul de țigară are acțiune de promovare a procesului malign.

Primele dovezi privind dieta (în sensul conținutului de calorii) ca agent de promovare în cancerogeneză au fost aduse de Tannenbaum în 1947 (citată de Pitot, 1980). Acum există mai multe dovezi care atestă corelația dintre diferitele diete și incidența cancerului cu diferite localizări pe glob. De exemplu, în cancerul de sîn s-a constatat existența unei legături directe între ingerarea crescută de grăsimi și creșterea incidenței acestuia (Pitot H., 1980).

Deși se cunosc dovezi experimentale suficiente în sprijinul acțiunii de promovare a unui număr de substanțe chimice ca hidrocarburi halogenate aromatice și zaharina, nu există pînă în prezent dovezi epidemiologice care să ateste acțiunea de promovare a tumorii și la om. Același lucru se poate afirma și pentru fenobarbital și prolactină.

S-a constatat că estrogenii de sinteză administrați sub forma anticoncepționalelor determină adenoame hepatice. Alcoolul, care nu este cancerigen în nici un model experimental testat, este un agent promotor la om pentru cîteva tipuri de cancer (de exemplu cancerul cavității bucale și laringelui).

În concluzie, mecanismul multistadial al cancerogenezei chimice, pentru că se aplică la mai multe tipuri de cancer experimental și chiar la om, aduce după sine generalizarea lui. Forbol-esterii, compuși foarte interesați, care s-a demonstrat că nu sînt numai agenți promotori puternici, ci au și efecte profunde asupra biologiei și diferențierii celulare, sînt foarte mult studiați în ultimii ani în scopul descifrării modificărilor biochimice care stau la baza procesului de promovare a cancerogenezei. Astfel, s-a ajuns la ideea că promovarea ar consta în inducerea unei diferențieri alterate, necesară exprimării alterării genetice, care altfel ar rămîne latentă (Dulbecco, 1980; Fukuda, 1981). Această viziune modernă privind cancerogeneza admite posibilitatea că tumorile nu sînt exclusiv consecința inevitabilă a unei leziuni genetice și în consecință prevenirea cancerului trebuie să fie îndreptată atît în direcția îndepărtării substanțelor cancerigene (inițiatori) sau împiedicării metabolizării lor în organism la produși mai activi (electrofili), cît și a evitării expunerii repetate la substanțe cu rol promotor. În prezent, se fac eforturi mari pentru identificarea și precizarea agenților cancerigeni compleți și a promotorilor, pentru că măsurile de prevenire sînt diferite.

9.4. Activarea metabolică a substanțelor chimice la derivați mai reactivi

9.4.1. Electrofilia — proprietate comună a cancerigenilor ultimi

Observații mai vechi au sugerat că metabolizarea substanțelor chimice cancerigene *in vivo* ar constitui factorul cheie în explicarea acțiunii lor cancerigene. Primele interpretări privind activarea metabolică a substanțelor chimice cancerigene în organism au fost efectuate de Elisabeth și James Miller în 1947, privind legarea covalentă a unui metabolit al dimetilamino-azobenzenului (DAB) la proteinele hepatice solubile la șobolanii hrăniți cu acest colorant. Observații asemănătoare privind formarea de complecși între derivații altor amine aromatice (2-acetilaminofluoren-AAF), precum și ale altor clase de substanțe chimice cancerigene (hidrocarburi aromatice policiclice) și proteinele țesuturilor țintă (ficat, respectiv piele) au fost efectuate de Heidelberger (1975) și Weisburger (1974).

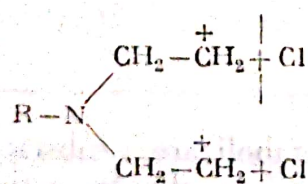
Heidelberger și Soroff (1967) au subliniat înalta specificitate a anumitor proteine din țesuturile țintă pentru acești cancerigeni. Motivul acestei marcate specificități, precum și rolul acestor complecși (derivați cancerigeni —

proteine specifice) în cancerogeneza chimică nu a fost elucidat. Mainigi și Sorof (citați de Miller, 1978) consideră că aceste proteine specifice ar avea rol mai mult în transportul și localizarea specifică a cancerigenilor în celulele țesuturilor țintă.

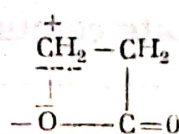
Recunoașterea rolului central al ADN ca deținător și păstrător al informației genetice și al ARN în translația informației genetice pentru sinteza proteinelor celulare deschide noi perspective în cercetarea rolului complexilor formați de cancerigenii chimici cu acizi nucleici în cancerogeneza chimică. Apar câteva studii care încearcă să evidențieze aducți ai cancerigenilor chimici cu ADN și ARN. Astfel, în 1957 Weeler și Skipper (citați de Miller, 1980), au arătat că ^{14}C din metil- ^{14}C bis (2 cloretil-metilamina) este incorporat în fracțiunea purinică din ARN și ADN din câteva țesuturi de șoarece. Studii ulterioare, efectuate de Farber E. și colab. (1960), Magee P.N. și colab. (1962), Brookes P. și colab. (1964) și Stekol J.A. și colab. (1960) au demonstrat încorporarea ^{14}C din etionină, 2-acetil-aminofluoren, dimetil-nitrozamină și hidrocarburi aromatice policiclice în ADN și ARN ale țesuturilor țintă. Studii ulterioare (Heidelberger, 1975; Miller J.A., 1971, 1978) au confirmat și identificat aducți ai derivaților cancerigenilor chimici cu ADN, ARN și proteine în țesuturile țintă. În multe din experiențele efectuate s-a putut face o corelație între nivelul complexilor formați cu macromoleculele celulare și probabilitatea dezvoltării tumorii în țesutul în cauză, dar acest fapt nu se poate generaliza. Totuși, datele experimentale existente pînă în prezent demonstrează faptul că acești metaboliți reactivi ai carcinogenilor chimici, legați covalent de macromoleculele celulare în țesuturile țintă, sînt necesari pentru inițierea procesului de transformare malignă, dar nu suficienți pentru explicarea mecanismului intim care stă la baza dezvoltării tumorii.

În prezent se acceptă generalizarea că marea majoritate a cancerigenilor chimici sînt activi numai după activarea metabolică în organism la cancerigeni ulti (adică derivați electrofili care inițiază transformarea malignă). Excepție de la această regulă o fac substanțele chimice alchilante și acilante, care sînt electrofili în forma lor naturală, putînd să efectueze legături chimice cu macromoleculele celulare.

Exemple: Agenți alchilanți:

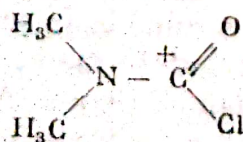


gaz muștar



beta-propiolactona

Agenți acilanți:



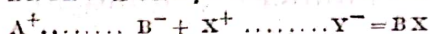
Clorura de dimetil-carbamoi

Datele experimentale acumulate în ultimii ani susțin că formele ultime ale cancerigenilor chimici sînt toate reactanți electrofili puternici. În felul acesta, substanțe chimice cu structuri atît de diferite (tabelul 9.I) ajung prin activare

metabolică în organism la metaboliți activi, care au ca trăsătură comună electrofilia. Deci, cancerigenii ultimi conțin în molecula lor atomi deficitari în electroni, care pot să reacționeze cu centrii nucleofili, adică cu atomi care posedă o pereche de electroni capabili să formeze o legătură chimică (Miller, 1978). Astfel de centri nucleofili întâlnim în macromoleculele celulare, cum ar fi acizii nucleici (atomi de azot, carbon și oxigen) și proteine (atomi de azot, sulf și oxigen) (tabelul 9. III).

TABELUL 9. III

**CENTRII NUCLEOFILI DIN MACROMOLECULELE CELULARE
(IDENTIFICAȚI PÎNĂ ÎN PREZENT) CA ȚINTE CRITICE
PENTRU AGENȚII CANCERIGENI**



Substrat celular (ADN, ARN, Proteine)		Reactanți electrofili	
A ⁺	B ⁻	X ⁺	Y ⁻
Substituție electrofilă (cu eliberare de H ⁺)	S SH N His. (N ₁ , N ₂) NH $\begin{cases} G (N_2, N_7, N_2) \\ A (N_1, N_3, N_7) \\ C (N_2) \end{cases}$	C ⁺	R-SO ₃ ⁻ , R-CO ₂ ⁻ HSO ₄ , H ₂ PO ₄ ⁻ , Cl ⁻ ...
Adiție electrofilă (fără eliberare de H ⁺)	CH Tir (C ₂) G (C ₈) C-OH Tir (O ₄) G (O ₄) P-OH ADN	N ⁺	N-O ⁻ din cicluri R-CO ₂ ⁻ , HSO ₄ ⁻

Miller și colab. (1978, 1980) au fost primii care au demonstrat că activarea biochimică a cancerigenilor chimici în organism este inițiată de sisteme enzimatice și anume de oxidaze cu funcție mixtă, dependente sau nu de citocromul P₄₅₀, existente în microzomii celulelor țesuturilor. Este o ironie a sorții că aceste sisteme enzimatice, care de obicei metabolizează medicamentele și ajută la detoxificarea organismului de substanțe nocive, sînt identice cu cele care activează substanțele chimice cancerigene la forme mai cancerigene și mutagene.

Cancerigenii ultimi odată formați, reacționează de obicei neenzimatic cu centrii nucleofili din macromoleculele celulare *in vivo*. Interesul deosebit pentru acești derivați îl constituie interacțiunile covalente ale acestor reactanți electrofili cu macromoleculele informaționale ADN, ARN și proteine. Deoarece cei mai mulți din cancerigenii chimici sînt metabolizați în organism la mai mult decît un tip de cancerigen ultim (exemplu AAF) și pentru că sînt mai mulți centri nucleofili în fiecare macromoleculă (tabelul 9. III), există posibilitatea formării mai multor complecși cu ADN, ARN și proteine pentru fiecare cancerigen ultim în parte. De aceea, se pune problema foarte greu de elucidat, care din acești complecși sînt cei mai importanți în cancerogeneză, precum și problema indentificării rolului specific al fiecărui complex în procesul cancero-

genezei. Avînd în vedere faptul că, așa cum am specificat în secțiunea 9.3, substanțele chimice cancerigene sînt și inițiatori și promotori, există posibilitatea ca interacțiunile stabilite între cancerigeni și macromoleculele celulare să aibă importanță fundamentală în ambele etape ale procesului de cancerogeneză. În cazul cancerigenilor compleți care pot să și inițieze și să și promoveze procesul cancerogenezei, sînt necesare interacțiuni cu centri nucleofili din mai multe macromolecule celulare, adică atît din ADN, cît și din proteinele specifice.

9.4.2.

Activarea metabolică a aminelor și amidelor aromatice

Cancerogenicitatea aminelor și amidelor aromatice depinde de transformarea lor în organism în derivați N-hidroxilați și convertirea mai departe a acestora la metaboliți mai reactivi, care se leagă covalent la centrii nucleofili din macromoleculele celulare.

9.4.2.1.

2-Acetil-aminofluorenil (AAF)

Descifrarea etapelor metabolice de activare a acestei amide în organism a început cu observația lui Miller și Cramer în 1960, că șobolanii hrăniți cu AAF excretă prin urină un metabolit nou, a cărui concentrație crește proporțional cu cantitatea de AAF administrată. Izolarea și caracterizarea acestui derivat metabolic a arătat că este N-hidroxi-2-acetil-aminofluorenil, metabolit care s-a dovedit un cancerigen mai puternic decît compusul de origine, fiind activ într-un număr mai mare de țesuturi ale aceluiași specii, ca și AAF, precum și la specii la care AAF nu este cancerigen (exemplu cobaiul) (fig. 9.3).

Studiile efectuate *in vivo* cu izotopi marcați, au arătat că administrarea ambilor produși (AAF și N-hidroxi-AAF) la șobolani duce la formarea de aducți cu acizii nucleici și proteinele hepatice, care au fost evidențiați și separați prin tehnici cromatografice din ficatul acestor animale. Aceleași experiențe efectuate *in vitro* cu aceiași compuși, în prezență de acizi nucleici și proteine, nu duc la formarea de aducți. În felul acesta, s-a ajuns la supoziția că N-hidroxi-AAF ar suferi o nouă activare în organism, etapa secundară de activare metabolică (fig. 9.3), care duce la derivați electrofili mai puternici, ce reacționează cu centrii nucleofili din macromoleculele celulare. King și colab. (1975), De Baum și colab. (1970) au demonstrat că activarea N-hidroxi-AAF în ficat are loc sub acțiunea unei enzime localizată în citosolul acestei celule cu formarea esterului sulfuric al N-hidroxi-AAF (N-sulfat-2-acetil-aminofluorenil). Weisburger (1972) l-a etichetat ca fiind metabolitul cancerigen ultim major al N-hidroxi-AAF în ficatul de șobolan. Cercetări ulterioare au ajuns la concluzia că ar exista chiar o corelație între activitatea sulfotransferazei hepatice și susceptibilitatea animalelor hrănite cu AAF de a dezvolta tumori hepatice. De asemenea, testarea activității biologice a N-sulfat-2-acetil-amino-fluorenilului a demonstrat că prezintă activitate mutagenă intensă într-un sistem test care transformă ADN (Maher V.M. și colab., 1968 — citați de Miller, 1980).

În ciuda acestor dovezi atât de convingătoare privind importanța majoră a esterului sulfuric al N-hidroxi-AAF în inducerea tumorilor hepatice la șobolan, ulterior s-a arătat că pe lângă acesta există și alți derivați ai N-hidroxi-AAF care și ei sînt foarte activi atât din punct de vedere cancerigen,

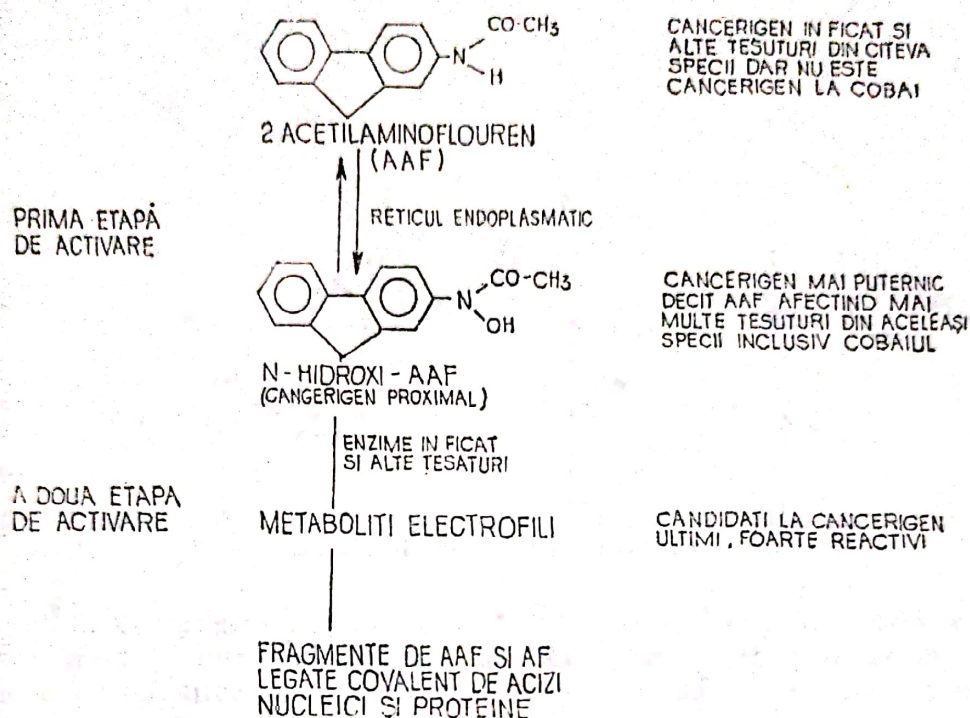


Fig. 9.3. — Etapele de activare metabolică a 2-acetil-aminofluorenului la cancerigeni mai puternici (Miller J. A. și E. C., 1980).

cît și mutagen. Căile enzimatice responsabile de formarea acestor esteri sînt ilustrate în fig. 9.4. Barstch și colab. (1971, 1972) au arătat că N-hidroxi-2-acetil-aminofluorenul suferă o oxidare catalizată de o peroxidază cu formarea unui radical nitroxid liber. Doi asemenea radicali pot, prin dismutare, să formeze N-acetoxi-2-acetil-aminofluorenul (un reactant electofil puternic) și 2-nitrozofluorenul, inactiv.

În timp ce aducții formați cu metionina (evidențiați sub forma o-metil-mercapto-2-acetil-aminofluoren și o-metil-mercapto-2-aminofluoren) izolați după degradarea proteinelor hepatice reprezintă numai 10% din derivații fluorenului legați de proteine, aducții guaninei identificați reprezintă marea majoritate din aducții formați cu acizii nucleici în ficatul de șobolan *in vivo*. Din aducții formați cu guanina, cea mai mare parte este reprezentată de cei în care substituția se face la C₈ al guaninei, aceștia fiind mai ușor îndepărtați *in vivo* din ADN al ficatului de șobolan decît aducții minori în care substituția se face la gruparea 2-amino- a guaninei (fig. 9.5).

9.4.2.2.

Alte amine aromatice

Activarea tuturor aminelor și amidelor aromatice depinde de conversia lor la derivații N-hidroxilați (Saccone G.T.P. și colab., 1981), Meta-

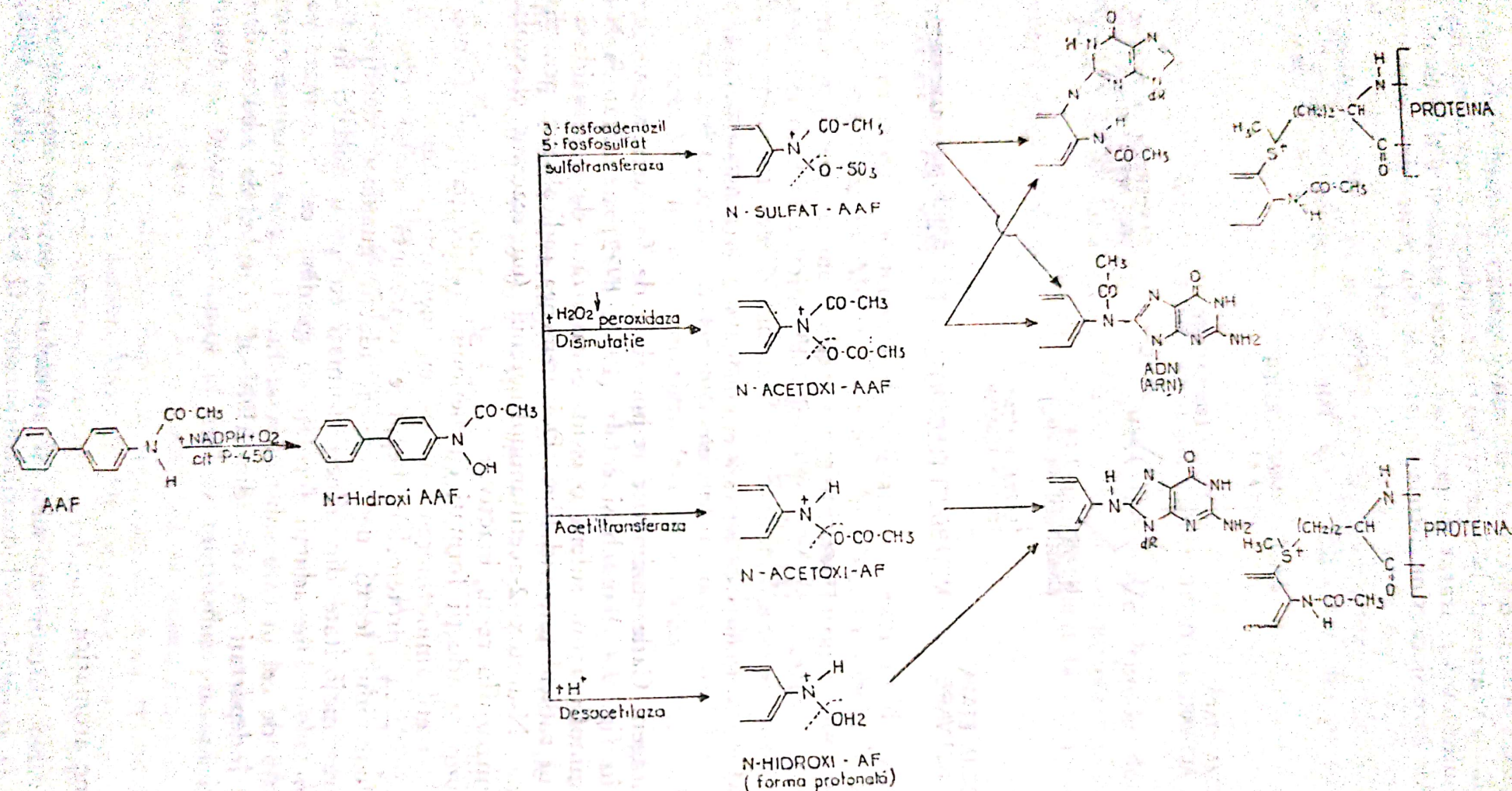


Fig. 9.4. — Căile de metabolizare a AAF la reactanți electrofili puternici în ficatul de șobolan. (Miller E.C., 1978, modificat).

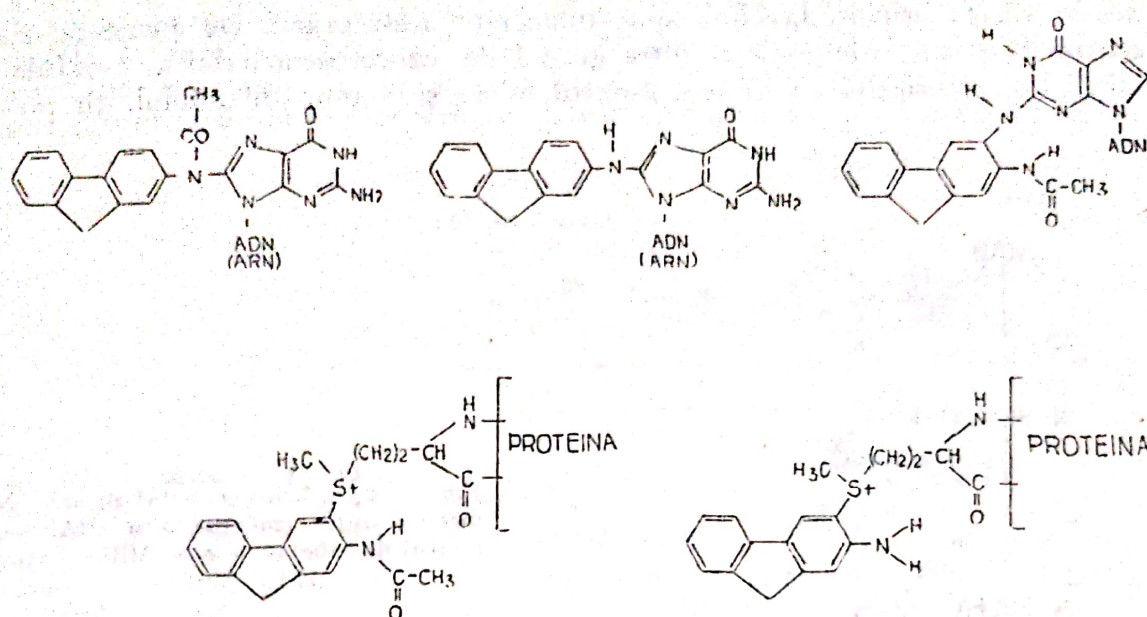


Fig. 9.5. — Aducți cu acizii nucleici și proteinele identificați în ficatul șobolanilor hrăniți cu 2-acetil-aminofluoren sau N-hidroxi-2-acetil-aminofluoren (Miller E.C., 1978).

boliții ultimi cancerigeni nu au putut fi identificați în toate cazurile și de asemenea reacțiile intermediare care duc la acești metaboliți ultimi diferă în funcție de substituenții aril, de țesut sau de specie. Vom explica aceasta prin exemple:

— *Metabolismul coloranților aminoazoici*: Kadlubar și colab. (1976, 1977) au adus dovezi experimentale privind metabolizarea N-metil-4-aminoazobenzenului (MAB) la derivați N-hidroxiilați și convertirea acestora mai departe la esterii lor cu acidul sulfuric. Oxidarea coloranților aminoazoici în organism este catalizată de o oxidază microzomială flavo-proteică, independentă de citocromul P-450, deosebindu-se astfel de cea care hidroxilează AAF (fig. 9.6).

Activarea mai departe a coloranților aminoazoici se face sub acțiunea sulfotransferazei, care are specificitate de substrat, deosebindu-se de cea care activează 2-acetil-aminofluorenul. Esterii sulfurici formați sînt reactanți electrofili puternici și formează aducți cu ADN, substituția făcîndu-se ca și în cazul AAF la C₈ al guaninei și N₂ al guaninei. Aductul major este și în acest caz cel format prin substituția la C₈ a guaninei de către atomul de azot al N-metil-4-aminoazobenzenului (fig. 9.6).

Studii efectuate și în alte laboratoare, precum și de Miller și colab. (1966) au demonstrat că derivații N-hidroxi sînt cancerigenii proximali și pentru acetil-aminostilben.

— *Metabolismul 2-naftilaminei și 4-aminodifenilului*: după descoperirea rolului N-hidroxilării AAF și a altor amine aromatice (coloranți aminoazoici și acetil-aminostilben) în hepatocancerogenează, au început cercetările pentru stabilirea metabolitului urinar activ responsabil pentru inducerea cancerului de vezică urinară cu unele arilamine recunoscute ca fiind cancerigene pentru vezica urinară (2-naftilamina și 4-aminodifenilul). În 1970, Radomski și colab. au constatat că prin instilări repetate ale N-hidroxi-2-naftilami-

nei în vezica urinară la câine apar tumori în acest organ. De asemenea, au constatat o corelație strînsă între gradul de cancerogenicitate a 1-naftilaminei (necancerigenă ca atare), 2-naftilaminei și 4-aminodifenilului, cu pro-

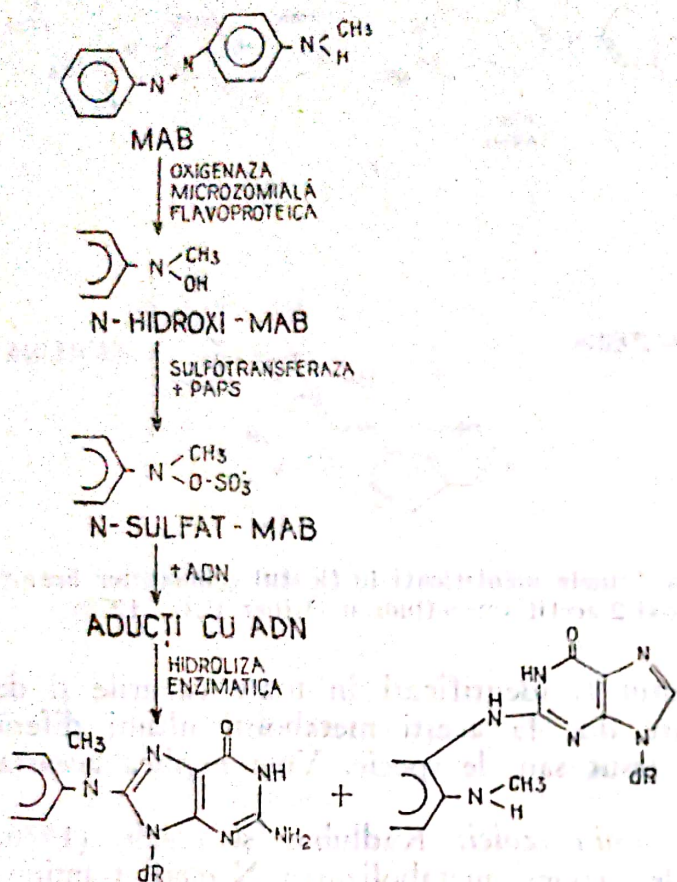


Fig. 9.6. — Schema metabolizării N-metil-4-amino-azobenzenului (MAB) în ficatul de șobolan *in vivo* (Miller I.A. și E.C., 1980).

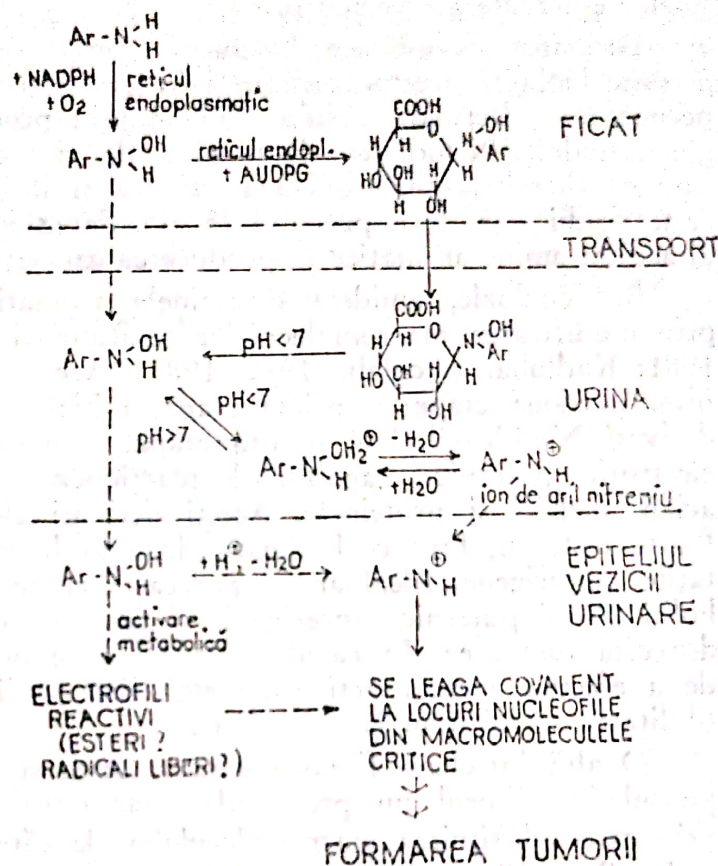
ducerea methemoglobinei (care măsoară N-hidroxilarea acestora în sânge) și concentrația produșilor N-hidroxilați în urină. S-ar părea deci că N-hidroxilarea acestor arilamine ar fi factorul cheie în producerea cancerului de vezică urinară la câine și probabil și la om. Identificarea ulterioară făcută de Radomski și colab. (1971) a unui conjugat al N-hidroxi-4-aminodifenilului cu acidul glucuronic în urina șobolanilor care au fost hrăniți cu acest cancerigen, îndepărtează dubiile care existau la început cu privire la rolul acestui metabolit hidroxilat în cancerogeneza vezicii urinare. Conjugarea metaboliților hidroxilați explică și posibilitatea transportului acestora de la locul lor de formare în reticulul endoplasmatic din celulele hepatice spre locul lor de acțiune din vezica urinară.

Ipoteza propusă în prezent pentru geneza cancerului vezicii urinare este următoarea: 2-naftilamina și 4-aminodifenilul sînt N-hidroxilați în ficat sub acțiunea oxigenazelor mixte dependente de citocromul P-450 și conjugati apoi tot în ficat cu acidul glucuronic. Din ficat, sînt transportați sub formă conjugată inactivă și solubilă prin sânge, ajungînd în vezica urinară. Aici, glucuronoconjugatii hidrolizează în mediul slab acid al urinei sau sub acțiunea beta-glucuronidazei urinare, punînd în libertate compusul activ N-hidroxilat. În mediul acid al urinei compuşii hidroxilați duc la ioni de arilnitreniu, care sînt probabil cancerigenii ultimi responsabili de inducerea

cancerului vezicii urinare (Kadlubar și colab., 1976, 1977) (fig. 9.7). Concluziile la care s-a ajuns în urma multiplelor cercetări sînt în acord cu concluziile mai vechi ale lui Radomski și colab. (1970, 1971) privind corelația cantitativă între cancerogenicitatea 1-naftilaminei, 2-naftilaminei și

Fig. 9.7. — Formarea și transportul metaboliților cancerigeni proximali (N-hidroxi) și ultimi (ionii de aril-nitreniu) ai arilaminelor pentru indicerea cancerului vezicii urinare.

Ar — substituent aril; AUDP — acid uridin-difosfoglucuronic; ... — transport sau reacție.



4-aminodifenilului pentru vezica urinară la câine cu nivelul excreției N-hidroamilinelor corespunzătoare. Argumente în plus în acest sens sînt aduse de experiențe care au indus carcinoame ale vezicii urinare prin instilații cu N-hidroxi-2-naftilamină, dar nu și cu 2-naftilamină. Rolul metaboliților urinari ai 2-naftilaminei în inducerea cancerului vezicii urinare la câine a fost de asemenea bine ilustrat de cercetările care protejînd epiteliul vezicii urinare de contactul cu urina nu dezvoltă tumori, în timp ce epiteliul vezicii expus la urină se transformă neoplazic (Kadlubar, 1977).

Nu este elucidat încă faptul dacă substanțele cancerigene ultime sînt formate în urină și transportate ulterior în celulele epiteliale ale vezicii urinare sau sînt formate chiar în interiorul celulelor epiteliale. Dar, așa cum am mai specificat, aciditatea slabă a urinei normale la om și câine poate facilita formarea acestor cancerigeni ultimi din glucuronidele existente în lumenul vezicii urinare. De asemenea, nu se cunoaște cum pot pătrunde ionii de arilnitreniu în celulă. Se presupune că fiind lipofili, au puternice proprietăți de detergent, care ar facilita pătrunderea lor prin stratul lipidic al membranei celulare și de aici ar fi transportați prin difuziune la macromoleculele celulare.

În sprijinul acestei ipoteze vin cercetările mai vechi ale lui Boyland și colab. și Watanabe și colab. (1972) cu unii metaboliți ai triptofanului: aci-

dul 3-hidroxi-antranilic, 3-hidroxi-chinurenina și 2-amino-3-hidroxi-acetofenona, care prin implantare în epiteliul vezicii urinare induc cancer vezical la rozătoare. Acești compuși, asemănători din punct de vedere chimic cu derivații hidroxilați ai arilaminelor amintite, pătrund deci în interiorul celulelor epiteliale ale vezicii urinare.

Formarea *in vitro* a N-glucuronidelor stabile din N-hidroxi-arilamine permite izolarea acestor complecși în cantități suficiente pentru cercetări experimentale ulterioare. Astfel, sînt în plin progres studiile privind hidroliza glucuronidelor-N-hidroxi-arilaminelor de sinteză în mediu acid, în mediu care conține beta-glucuronidaza urinară și în mediu care conține urină. Aceste studii vor duce probabil la elucidarea mecanismului intim de acțiune al acestor amine aromatice în producerea cancerului vezicii urinare.

În concluzie, amidele și aminele aromatice inițiază formarea tumorii prin modificarea macromoleculelor țesutului țintă (Saccone G.T.P. și colab., 1981; Kadlubar și colab., 1980, 1981). Acești compuși sînt activați în organism în două etape: o primă etapă, inițială, de N-oxidare, cu formare de derivați N-hidroxilați și o altă etapă, secundară, de formare a derivaților electrofili puternici, capabili să reacționeze cu macromoleculele celulare, acizii nucleici și proteinele. Acești derivați electrofili fiind reactivi sînt și foarte instabili, fapt ce limitează distanța la care pot să-și exercite proprietățile cancerigene. Ideal ar fi ca această etapă secundară care duce la metabolii ultimi puternic cancerigeni, să aibă loc chiar în țesutul țintă, unde se dezvoltă tumoarea. În cazul că lucrurile se petrec așa, capacitatea țesutului de a efectua această activare metabolică ar fi determinantă pentru susceptibilitatea aceluia țesut la cancerizare.

O altă întrebare firească care se pune și care își va găsi probabil răspunsul în viitorul nu prea îndepărtat este: care sînt mecanismele intime prin care substituirea macromoleculelor de către fragmentele active ale cancerigenilor ultimi afectează activitatea macromoleculelor corespunzătoare? În cazul 2-acetil-aminofluorenului, explicațiile existente pînă în prezent se referă în totalitate la substituirea ADN cu fragmente de 2-AAF la C₈ al guaninei (Fuchs și colab., 1976). Se consideră că la formarea aductului guanina suferă o rotație în afara dublului helix, fragmentul de fluoren inserîndu-se astfel în interiorul helixului. Aceste modele sînt în acord cu substituția perechilor de baze și deleția mutațiilor. Toate aceste substituții pot duce în final la modificări în transcripția informației genetice.

9.4.3.

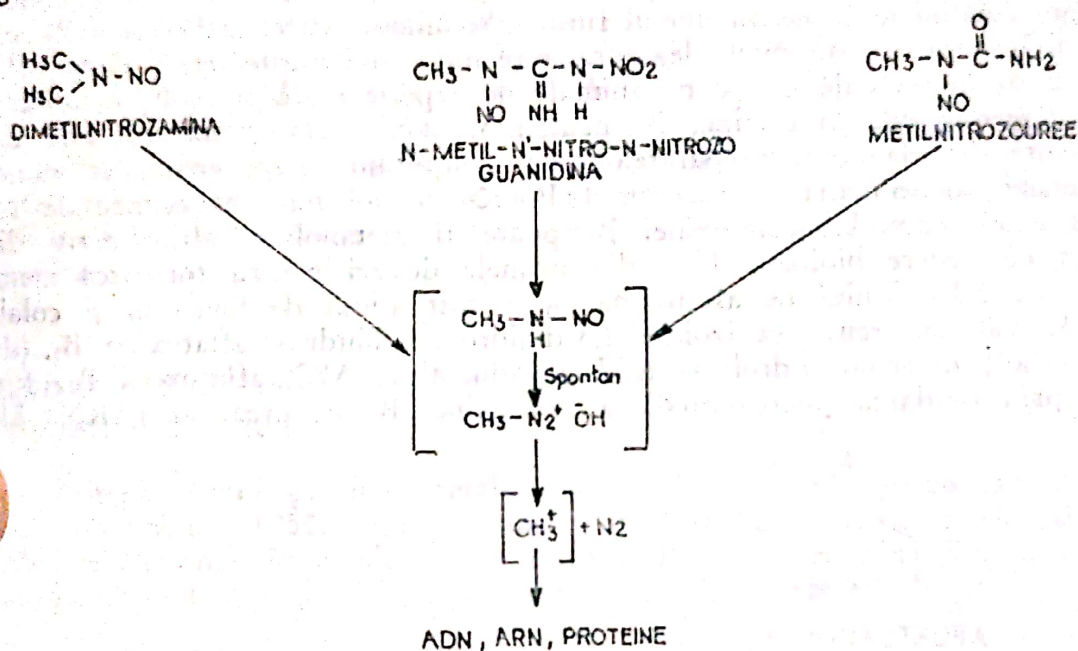
Donori potențiali de grupări alchil simple (metil sau etil)

Din această grupă de substanțe fac parte dialchil-nitrozaminele, dialchilhidrazinele, aril-dialchil-triazenele, alchil-nitrozamidele și alchil-nitrozimidele ca donori de grupări $-\text{CH}_3$ și etionina ca donor de grupări $-\text{C}_2\text{H}_5$.

Dialchil-nitrozaminele sînt activate prin oxidarea unei grupări alchil de către sisteme monooxigenazice dependente de citocromul P-450 din rețiculul endoplasmatic al celulelor corespunzătoare (Magee și colab. 1968;

Michejda C. J., 1980). Derivații monoalchil formați se descompun spontan la ionii monoalchil-diazoniu, foarte reactivi.

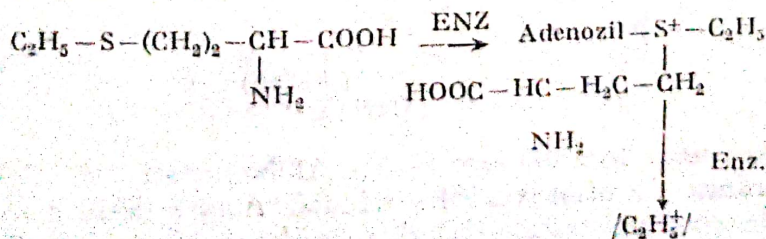
N-nitrozamidele și N-nitrozimidele pot fi activate neenzimatic prin reacția lor cu apa sau alte grupări nucleofile (sulfhidril sau amino), ducând la formarea aceluiași intermediar monoalchil-diazoniu. Administrarea acestor cancerigeni duce la numeroși complecși metilați ai acizilor nucleici și proteinelor în țesuturile țintă. Locul de metilare este, după cum se vede în fig. 9.8, în diferite poziții nucleofilice ca: O₆ la guanină, N₇ la guanină, N₃ la adenină etc.; N₁ și N₂ din histidină, S₁ din cisteină etc.



CH₃ - ADN } O₆ - G, N₇ - G, N₃ - A etc.
 CH₃ - ARN }
 CH₃ - PROT. - N₁ și N₂ - histidina, S din cisteină

Fig. 9.8. — Transformarea *in vivo* a dialchil-nitrozaminelor și a N-nitrosoamidelor și N-nitrozimidelor la reactanți electrofili puternici și reacția cu macromoleculele celulare (Miller E.C., 1978).

Asemănător cu dialchil-nitrozaminele, 1,2-dialchil-hidrazinele și aril-dialchil-triazenele sînt convertite în reticulul endoplasmatic de monooxigenaze mixte dependente de citocromul P-450 tot la agenți alchilanți puternici. Experimental s-a demonstrat că etionina (un analog al aminoacidului natural metionină) poate trece în S-adenozil-etionină, putînd fi în felul acesta donor de grupări etil (Miller J. A. și Miller E. C., 1980).



9.4.4.

Activarea metabolică a aflatoxinelor B₁ și B₂

Încă din 1970, soții Miller s-au preocupat și de activarea metabolică a aflatoxinei B₁. Acest cancerigen hepatic potent este implicat în etiologia carcinomului hepato-celular la populațiile umane din Africa și estul îndepărtat. Studii multiple efectuate de Garner și colab. (1972), precum și de Wogan și colab. (1971) și Ames și colab., (1971) au arătat existența unei legături între toxicitatea, mutagenicitatea și cancerogenicitatea acestei micotoxine și dubla legătură din inelul furanic terminal. Astfel, aflatoxina B₂, careia îi lipsește această dublă legătură, este mult mai puțin activă decât aflatoxina B₁ în testările făcute pe animale de experiență. Mai mult, toxicitatea și mutagenicitatea aflatoxinei B₁ pentru *Salmonella typhymurium* este dependentă de adăugarea preparatelor care conțin un sistem enzimatic monooxygenazic dependent de citocromul P-450. Aceste date experimentale sugerează că epoxidul aflatoxinei B₁ poate fi metabolitul ultim activ din punct de vedere biologic. Una din primele dovezi pentru formarea metabolică a 2,3-oxidului de aflatoxină B₁ a fost adusă de Swenson și colab. (1973), care au reușit să izoleze 2,3-dihidro-2,3-dihidroxi-aflatoxina B₁ (dihidro-diol) dintr-un hidrolizat acid al aductului rARN-aflatoxină B₁, format prin oxidarea microzomială a aflatoxinei B₁ în prezența rARN. Un

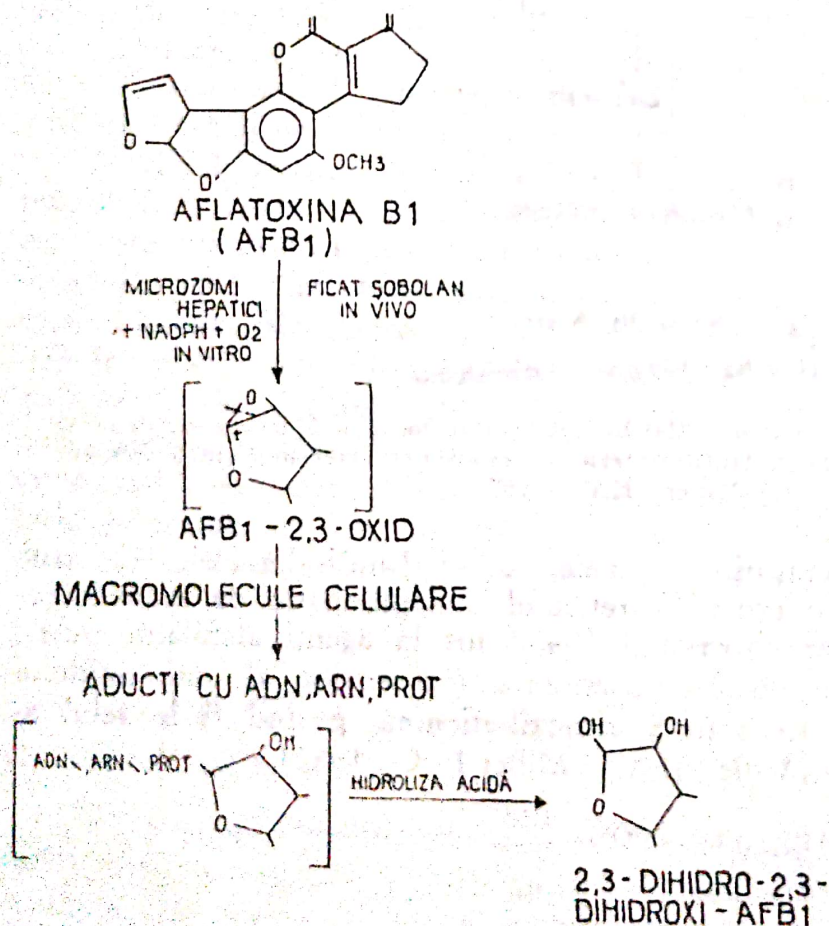


Fig. 9.9. — Activarea aflatoxinei B₁ de către monooxigenazele hepatice la un metabolit activ (AFB₁-2,3-oxid), care reacționează cu macromoleculele celulare (Swenson D. H., 1973, modificat).

derivat asemănător a fost eliberat și din ADN hepatic și rARN hepatic al șobolanilor hrăniți cu aflatoxină B₁ tritiată. Aceste două cercetări sînt dovezi destul de convingătoare privind epoxidarea aflatoxinei B₁ *in vivo*, cu

formarea 2,3-epoxidului aflatoxinei B₁, cancerigen ultim foarte activ din punct de vedere biologic. Cercetările din laboratorul lui Miller privind metabolitul ultim cancerigen al aflatoxinei B₂ folosind aflatoxina B₂ tritiată au evidențiat că numai 1% din cantitatea de aducți cu rARN și ADN obținuți în cazul administrării aflatoxinei B₁ se obțin cu aflatoxina B₂. Această cantitate mică de aducți concordă cu cele raportate anterior de Wogan și colab. (1971), care au arătat că activitatea biologică a aflatoxinelor depinde de dubla legătură 2-3 din nucleul furanic terminal. Pentru ca aflatoxina B₂ să devină activă, trebuie să se transforme enzimatic în aflatoxina B₁, care la rândul ei urmează calea de activare metabolică la 2,3-epoxidul aflatoxinei B₁ (fig. 9.9). S-au efectuat multe încercări în laboratorul lui Miller, precum și de alți cercetători, de a sintetiza 2,3-oxidul aflatoxinei B₁, fără nici un succes, probabil din cauza mării reactivități și instabilități al acestuia. Swenson și colab. au arătat însă că 2,3-diclorura aflatoxinei B₁ sintetizată ca un model pentru 2,3-oxidul aflatoxinei B₁, este foarte reactivă și manifestă o mare putere cancerigenă și mutagenă ca atare, fără să necesite o activare metabolică.

9.4.5.

Activarea metabolică a hidrocarburilor aromatice policiclice

Primele studii privind metabolismul hidrocarburilor aromatice policiclice datează din 1950, când unii autori au semnalat apariția derivaților fenolici și chinonici în produsele de excreție ale animalelor tratate cu hidrocarburi aromatice policiclice sau în culturi de celule tratate cu acești compuși.

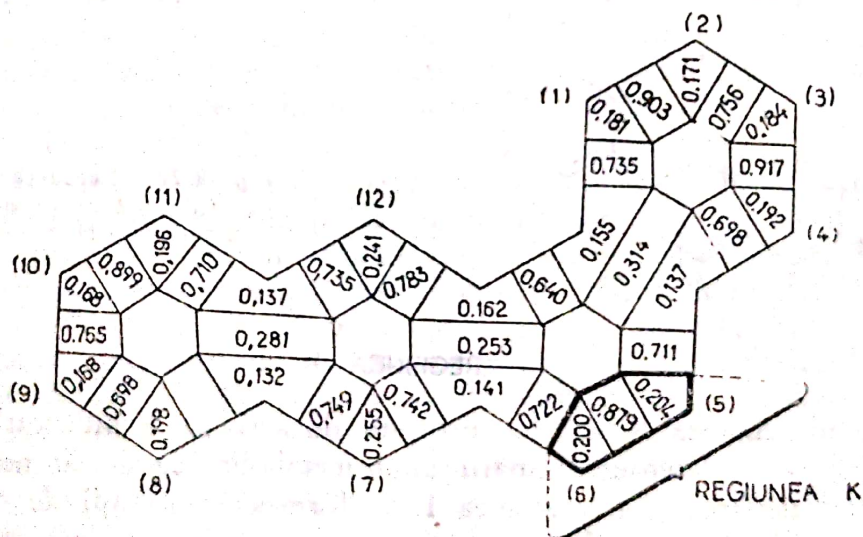


Fig. 9.10. — Diagrama lui A. Pullman a 1,2-benzantracenului, Regiunea K, cu cea mai mare densitate de electroni $-1,283$, se găsește între atomii C₈ și C₉ (reiese din suma celor trei șarje participante $0,200$, $0,879$ și $0,204$) (Pullman A. și colab., 1955).

Cam în aceeași perioadă (1955) s-au făcut calcule prin metode mecanice-cuantice în scopul găsirii unui parametru care să poată fi corelat cu cancerogenitatea hidrocarburilor aromatice policiclice *in vivo* sau cu pro-

filurile metabolizilor *in vitro*. Din teoriile elaborate, cea mai cunoscută este teoria regiunii K a soților Pullmann (1955). Această teorie afirmă că pentru ca o hidrocarbură să fie cancerigenă trebuie să posede „regiunea K” cu o densitate mare de electroni (fig. 9.10). Conform acestei teorii, numai hidrocarburile aromatice policiclice care au regiune K cu o densitate de electroni π ce depășește 0,44 electroni pe $\text{\AA}^2$ sau cu o densitate de peste 1,283 de electroni în regiunea K au efecte cancerigene. Hidrocarburile aromatice policiclice cu valori mai scăzute ale densității electronice în regiunea K (sub 1,283) își pierd puterea cancerigenă. Potențialul cancerigen crește deci direct proporțional cu valoarea densității electronilor π a regiunii K. (tabelul 9.IV).

TABELUL 9.IV

RELATIA DINTRE PUTEREA CANCERIGENĂ A UNOR HIDROCARBURI AROMATICE POLICICLICE ȘI DENSITATEA ELECTRONILOR π ÎN REGIUNEA K.

Substanța chimică	Densitatea electronilor în regiunea K	Efectul cancerigen
1,2-benzantracen	1,283	$\pm$
7-metil-1,2-benzantracen	1,294	+
9-metil-1,2-benzantracen	1,296	++
10-metil-1,2-benzantracen	1,306	+++

Întocmit pe baza datelor lui Pullmann (1955) tabelul 9.IV ilustrează acest fapt. Astfel se poate prevedea prin calcule teoretice puterea cancerigenă a unei hidrocarburi aromatice policiclice, calculându-i densitatea electronilor în regiunea K. Ulterior, s-a descris existența unei a doua regiuni în molecula hidrocarburi aromatice cancerigene, numită regiunea L (fig. 9.11).

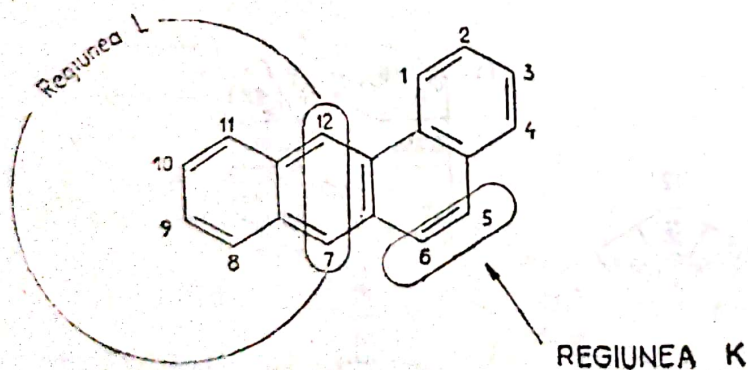


Fig. 9.11. — Regiunea K (legătura C_5-C_6) și regiunea L (poziția 7,12) în molecula benzantracenului.

În timp ce în regiunea K are loc procesul de activare a hidrocarburi aromatice policiclice, în sensul formării unui metabolit reactiv al acesteia (de exemplu oxid de arenă), în regiunea L se formează produșii de detoxifiere (exemplu: formarea unei chinone). Există, prin urmare, un raport de forțe electronice între regiunea K și L, care imprimă moleculei chimice proprietăți cancerigene și anume: dacă regiunea K are o reactivitate considerabilă, regiunea L trebuie să aibă o reactivitate scăzută, acest raport de forțe fiind obligatoriu pentru ca substanța chimică considerată să aibă efect cancerigen. Se citează ca exemplu hidrocarbura policiclică antantrenul, care, deși prezintă regiunea K intens reactivă, nu are efect cancerigen, fiindcă îi lipsește regiunea L (Kyselka, 1967, citat de Chiricuță I. și colab., 1974).

Pullman consideră că interacțiunea hidrocarburilor aromatice policiclice cu macromoleculele celulare (proteine) se realizează cel mai probabil printr-o reacție de adiție electrofilă între regiunea nucleofilă (regiunea K) din hidrocarbură și unele grupări electrofile din proteine.

Privită inițial cu mult interes, această teorie a dat ulterior naștere la numeroase critici izvorâte din imposibilitatea de a explica acțiunea cancerigenă a unor hidrocarburi aromatice policiclice care nu posedă regiunea K în molecula lor. De asemenea, unele neconcordanțe cu teoria lui Pullman apar și la compușii aromatici policiclici care conțin heteroatomi (N, S etc.)

Cercetările ulterioare efectuate în laboratorul lui Heidelberger (1975) și Miller (1970, 1978, 1980) au demonstrat că majoritatea substanțelor chimice își manifestă acțiunea cancerigenă după metabolizare în organism sub acțiunea unor sisteme enzimatic de oxigenaze mixte la metaboliți mai reactivi. Aceștia reacționează cu centrii nucleofili din macromoleculele celulare, ADN, ARN și proteine. Deoarece hidrocarburi aromatice policiclice sînt o clasă de substanțe relativ inerte, este lesne de presupus că un grup de metaboliți mai reactivi ai acestora sînt responsabili de activitatea lor cancerigenă. Încă din 1950, Boyland și colab. au sugerat că fenolii și dihidro-diolii identificați ca produși de metabolizare ai hidrocarburilor aromatice policiclice sînt de fapt produși secundari ai epoxizilor, forme reactive care rezultă din metabolizarea acestor hidrocarburi și care interacționează cu macromoleculele celulare. Plecînd de la existența unei regiuni foarte reactive (regiunea K) în hidrocarburi aromatice policiclice cancerigene, a fost firesc ca primii epoxizi testați pentru acțiunea lor cancerigenă și mutagenă să fie epoxizii formați în regiunea K. Slaba cancerogenicitate a multor epoxizi ai regiunii K în benzantracen sau în hidrocarburi înrudite cu acesta, atunci cînd sînt aplicate topic sau în injecții subcutanate la șobolan sau șoarece au dezamăgit așteptările (Boyland, 1967). Există totuși și unele studii în care testarea acestor epoxizi, efectuată în culturi de celule arată că aceștia sînt mai activi decît hidrocarburi de origine (Kuroki și colab. 1971, citați de Miller E. C., 1978).

Cunoașterea mecanismelor activării metabolice a hidrocarburilor aromatice policiclice și a rolului posibil al produșilor de metabolism în cancerogenează s-a dezvoltat mult în ultimii ani, în special prin cercetările efectuate în laboratoarele lui Brookes (1964), Conney (1976), Sims (1974) și Jerina (1978). În 1974, Sims și colab. au fost primii care au semnalat faptul că metabolizarea hidrocarburilor aromatice policiclice se poate face și în alte regiuni ale moleculei decît regiunea K. În ultimii ani, o atenție specială s-a acordat stabilirii naturii (cancerigenului ultim al benzpirenului, precum și identificării aducților acestuia cu acizii nucleici. S-a ajuns la concluzia că 7-beta-8-alfa-dihidroxi-9-alfa-10-alfa-epoxi-7,8,9,10-tetrahidro-benzpirenului este un metabolit ultim major, electrofil, mutagen și cancerigen al acestei hidrocarburi. Se mai formează și un izomer beta în această cale metabolică de activare, dar în proporție mai mică (Sims și colab., 1974; Conney și colab., 1976; Jerina și colab., 1978; Wood și colab., 1981) (fig. 9.12).

Deci, etapele metabolice de formare a diol-epoxizilor benzpirenului sînt: oxidarea nucleului benzenic terminal la un oxid de arenă, hidratarea oxidului de arenă cu formarea unui dihidro-diol și epoxidarea dublei legături olefinice a dihidro-diolului cu formarea celor doi izomeri (7-beta-8-

alfa-dihidroxi-9-alfa-10-alfa-epoxi- și respectiv 7-beta-8-alfa-dihidroxi-9-beta-10-beta-epoxi-7,8,9,10-tetrahidro-benzpiren) (fig. 9.12). Ambii epoxizi se formează într-o regiune a moleculei denumită de Jerina și colab. (1978) „bay

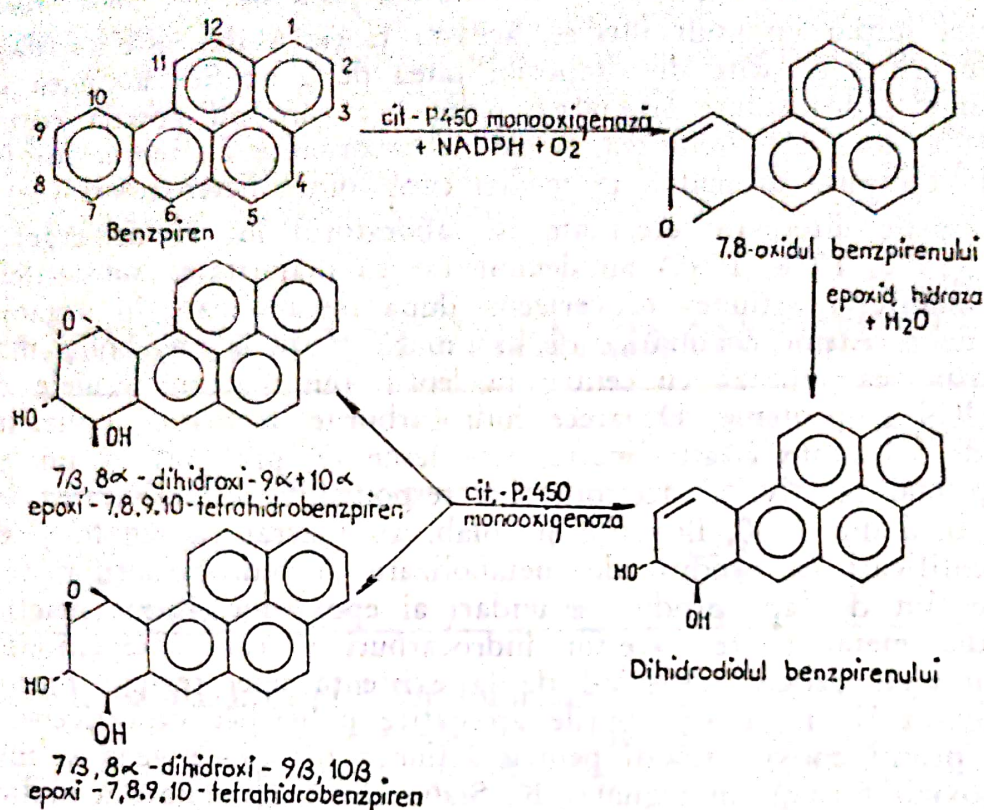


Fig. 9.12. — Călea majoră de activare metabolică a benzo[a]pirenului cu formarea celor doi izomeri (izomerul fiind epoxidul major). Producții majore de reacție ai acestor doi izomeri cu ADN implică gruparea 2-amino din guanină și C₁₀ a epoxidului.

region“. Acești autori consideră că regiunea „bay“ constituie regiunea dintre pozițiile 4 și 5 în fenantren, 1 și 12 în benzantracen și 10 și 11 în benzo[a]piren (fig. 9.13).

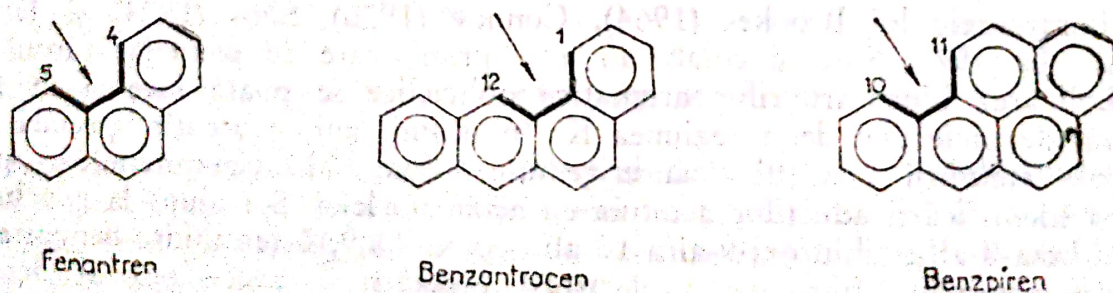


Fig. 9.13. — Poziția „bay region“ în fenantren, benzantracen și benzo[a]piren (Jerina D.M., 1978).

Datele experimentale ale lui Conney (1976) și Jerina (1978) arată că diol-epoxizii formați în pozițiile 1,2 ale benzantracenului și 7-metil-1,2-benzantracenului, pot fi cancerigenii ultimi analogi celor formați în pozițiile 9,10 din benzo[a]piren, în ambele cazuri fiind implicată „regiunea bay“. În consecință, opinia lui Seaisland și Sims (1974) că cei trei diol-epoxizi

(fig. 9.14) ar fi cancerigenii ultimi cei mai reactivi ai hidrocarburilor corespunzătoare, este valabil numai pentru 7,8-diol-9, 10-epoxidul benzpirenului, ceilalți doi epoxizi nefiind formați în regiunea „bay“. Argumentele experimentale ale acestor autori provin din testarea activității cancerigene și

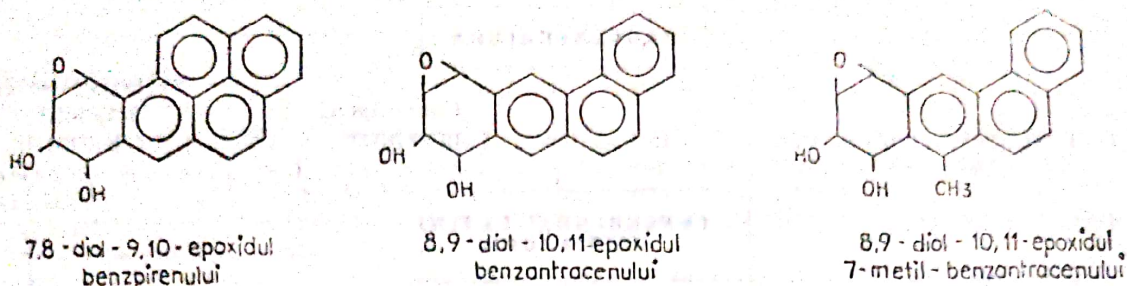


Fig. 9.14. — Diol-epoxizii cancerigenii ultimi cei mai reactivi ai benzantracenului și benzpirenului.

mutagene a diol-epoxizilor benzantracenului și a compușilor metilați ai acestuia (7-metil- și 7,12-dimetil-benzantracen). Astfel, s-a dovedit că 3,4-dihidro-diolul benzantracenului este mai cancerigen când se aplică pe pielea de șoarece, decât oricare dihidrodiol format în alte poziții ale moleculei, inclusiv poziția 8,9 a benzantracenului. De asemenea, 1,2-epoxidul-3,4-dihidro-diolului benzantracenului este un mutagen mult mai puternic decât sînt cei doi diol-epoxizi cu substituenții în pozițiile 8,9; 10 și 11. Și în cazul 7-metil-1,2-benzantracenului și a 7,12-dimetil-1,2-benzantracenului, nucleul benzenic angular este considerat regiunea critică pentru activarea metabolică a acestora (fig. 9.14).

Cu toate că ideea atît de clară și convingătoare a lui Jerina și colab. că diol-epoxizii „regiunii bay“ sînt de importanță majoră în cancerogeneza prin hidrocarburi aromatice policiclice, ca și în cazul aminelor aromatice, și în cazul hidrocarburilor aromatice policiclice s-au obținut ulterior dovezi pentru formarea și a altor metaboliți activi în afara „regiunii bay“ (Miller, 1980).

Aceste studii au adus însă idei noi și importante în înțelegerea cancerogenezei prin hidrocarburi aromatice policiclice și au demonstrat complexitatea activării metabolice a acestora. Cu toate acestea, cunoștințele în domeniul activării metabolice a hidrocarburilor aromatice policiclice sînt departe de a fi complete.

9.5.

Schema generală a mecanismului cancerogenezei chimice

Concepția actuală privind mecanismul prin care substanțele chimice induc cancerul poate fi sintetizată în fig. 9.15. Scopul final al studiilor multiple efectuate asupra reactanților electrofili au dus la înțelegerea și elucidarea în mare măsură a naturii etapei de inițiere a cancerogenezei. Cele mai multe dovezi au fost obținute asupra reacțiilor reactanților electrofili cu ADN, precum și asupra mutagenității acestor forme electrophile și a corelației dintre activitatea mutagenă și cancerogenitatea substanțelor chi-

mice și a metaboliților lor. Toate aceste date subliniază faptul că mutația ADN sau probabil alte modificări în informația genetică a celulelor, induse de reacțiile acestora cu reactanții electrofili, constituie etapa primară în inițierea cancerogenezei de către substanțele chimice cancerigene. Pentru că în general

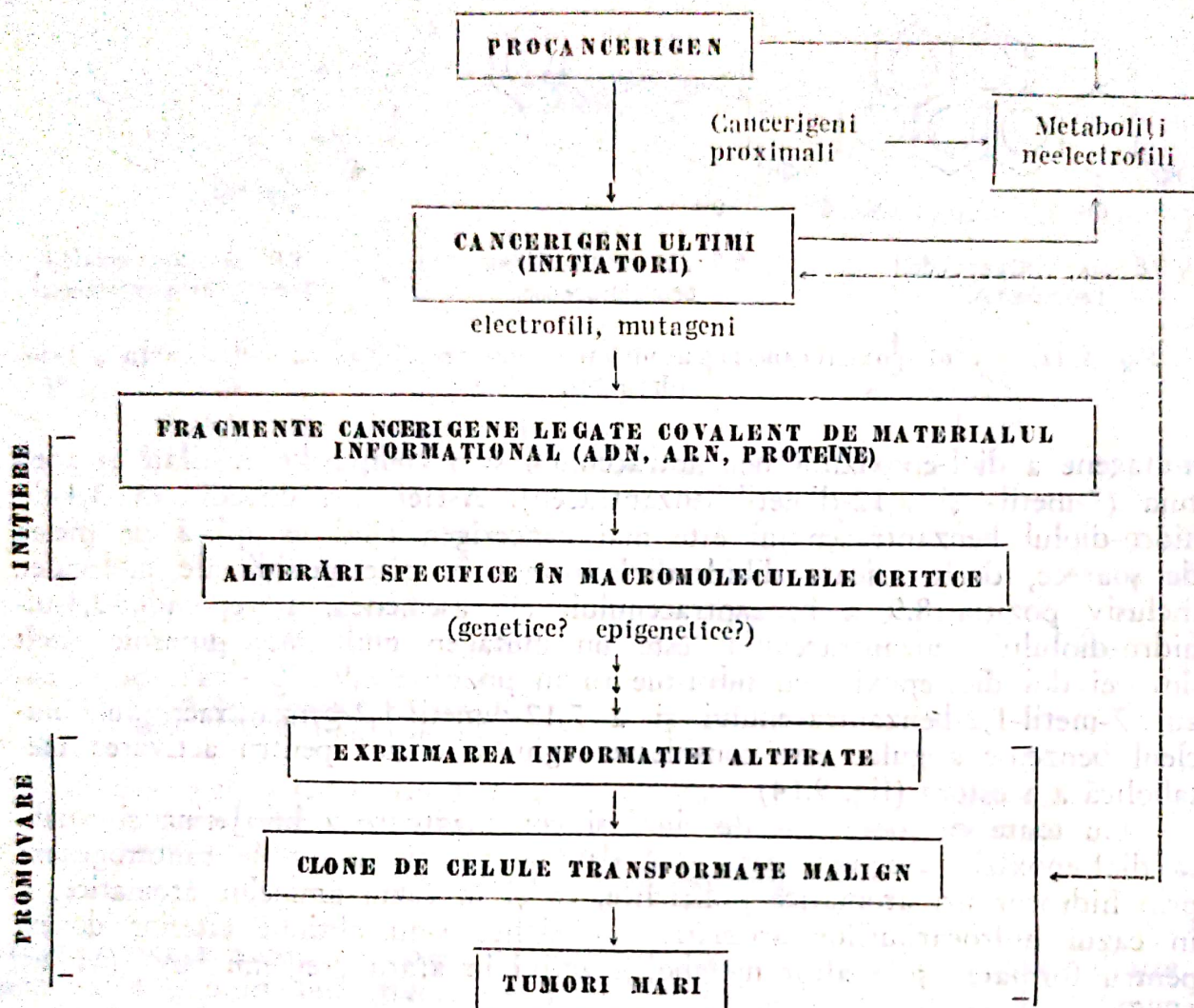


Fig. 9.15. —Etapele celulare și moleculare în cancerogeneza chimică (Miller F.C. și J.A. 1980).

aceste date sînt multe din ele indirecte, nu poate fi exclusă nici posibilitatea ca în unele cazuri modificări negenetice să constituie evenimentele primare în cancerogeneza. De exemplu, studiile lui Mintz și colab. au arătat că *in vivo* celulele de teratocarcinom pot să se diferențieze, ducînd la țesuturi aparent normale. Nu s-a demonstrat pînă în prezent rolul virusurilor oncogene în inițierea cancerogenezei prin substanțe chimice, dar sînt necesare mai multe investigații pentru a demonstra rolul posibil al integrării unei informații virale în genom. Mecanismele prin care cancerigenii chimici sau metaboliții lor participă la faza de promovare a cancerogenezei chimice nu au fost studiate suficient, dar studiile cu unii agenți promotori ca: forbol-esteri, fenobarbital, în unele sisteme model (cancerogeneza epidermei sau hepatice) au oferit date experimentale importante pentru înțelegerea acestei etape a cancerogenezei chimice. Este foarte probabil că și cîțiva cancerigeni chimici sau metaboliți neelectrofili ai acestora să poată promova procesul inițiat de

metaboliți electrofili. Este de asemenea probabil ca o parte din reactanții electrofili să joace rol și în promovare, cel puțin în unele cazuri. În felul acesta, numărul mare de aducți formați pentru același cancerigen atît cu ADN, cît și cu ARN și proteine sînt necesari unii în inițierea fenomenului de cancerogeneză și alții în etapa de promovare a procesului de cancerizare.

Bibliografie

- ALTHOUSE R., HUFF J., TOMATIS L., WILBOURN J. — *Cancer Res.*, 1980, 40, 1—13.
 AMES B. N., McCANN J., YAMASAKI E. — *Mutation Res.*, 1975, 31, 347—364.
 ARMUTH V., BERENBLUM I. — *Cancer Res.*, 1974, 2 704—2 707.
 BALBINDER E., REICH C. J., SHUGARTS D., KEOGH, FIBIGER R., JONES T., BANKS A. — *Cancer Res.*, 1981, 41, 2 967—2 973.
 BARTSCH H., HECKER E. — *Biochim. biophys. Acta (Amst.)*, 1971, 237, 567—579.
 BARTSCH H., DWORKIN M., MILLER J. A., MILLER E. C. — *Biochim. biophys. Acta (Amst.)*, 1972, 286, 272—298.
 BERENBLUM I. — *Cancer Res.*, 1941, 1, 44—48.
 BERENBLUM I. — *Progr. Exp. Tumour Res.*, 1969, 11, 21—30.
 BERENBLUM I. — Theoretical and practical aspects of the two stage mechanism of carcinogenesis. In: Carcinogenes: identification and mechanisms of action, Raven Press, New York, 1979, 25—36.
 BERENBLUM I. — Cancer prevention of a realizable goal. in: Accomplishments in Cancer Research, Philadelphia, J. B. Lippincott, 1980, 101—105.
 BOUTWELL R. K. — Biochemical mechanism of tumour promotion, in: *Carcinogenesis*, vol. 2, Raven Press, New York, 1978, p. 49—58.
 BOYLAND E., SIMS P. — *Int. J. Cancer*, 1967, 2, 500—504.
 BRADY J., LIBERATOR F., HARPER P., GROENWALD P., BURNETT W., DAWIES J. și colab. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1977, 59, 1 383—1 385.
 BROOKES P., LAWLEY P. D. — *Nature*, 1964, 202, 781—784.
 * * * — Cancerul, mediul ambiant și cancerogeneza, vol. 5, Material de Documentare și Îndrumare Metodologică, Cluj-Napoca, 1980.
 CHIRICUȚĂ I., BOJAN O. — Tumori maligne. În: Patologie biochimică, Ed. medicală, București, 1974, p. 886—928.
 CHRISTOV K. — *Cancer Res.*, 1975, 35, 1 256—1 262.
 CLAYSON D. B. — In: Chemical Carcinogenesis, p. 467. Boston with Brown and Co., 1962.
 CONNEY A. H. — *Biochem. biophys. Res. Comm.*, 1976, 72, 680.
 CRAMER J. W., MILLER J. H., MILLER E. C. — *J. Biol. Chem.*, 1960, 235, 885—888.
 DEBAUN J. R., MILLER E. C., MILLER J. A. — *Cancer Res.*, 1970, 30, 577—593.
 DeCOUFLE P. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1978, 61, 1 025—1 030.
 DIAMOND L., O'BRIEN T. G., BAIRD W. H. — *Advanc. Cancer. Res.*, 1980, 32, 1—74.
 DULBECCO R. — In: *Accomplishments in Cancer Res.*, ed. by J. G. Fortner, and J. E. Rhoads, I. B. Lippincott Comp., Philadelphia-Toronto, 1980, p. 99—100.
 EINHORN N. — *Cancer*, 1978, 41, 444—447.
 FARBER E., MAGEE P. N. — *Biochem. J.*, 1968, 77, 588—590.
 FUCHS R. P. R., LEFEVRE J. F., PONYET J., DAUNE M. J. — *Biochemistry*, 1976, 15, 3 347—3 351.
 FUKUDA M. — *Cancer Res.*, 1981, 41, 4 621—4 628.
 GARNER R. C., MILLER E. C., MILLER J. A. — *Cancer Res.*, 1972, 32, 2 058—2 065.
 HAMMOND E. C., SELIKOFF I. J., LAWTHORP P. L., SELDMAN H. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1976, 271, 116—124.
 HECKER E. — *Cancer Res.*, 1968, 28, 2 338—2 349.
 HEIDELBERGER C. — *Ann. Rev. Biochem.*, 1975, 44, 79—121.
 * * * — IARC Monography on the Evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to the humans, vol. 1—20, Lyon, France, International Agency for Research on Cancer, 1972—1979.
 IRVING C. C., VEAZY R. A. — *Cancer Res.*, 1969, 29, 1 799—1 804.
 JERINA D. M., YAGI H., LEHI R. E., THAKKER D. R., SCHAEFER-RIDDER M., KARLE J. M., LEVIN W., WOOD A. W., CONNEY A. K. — The bay region. Theory of Carcinogenesis and cancer, vol. I, 1978, p. 173—183.
 KADLUBAR F. E., MILLER J. A., MILLER E. C. — *Cancer Res.*, 1976, 36, 2 350—2 354.
 KADLUBAR F. F., MILLER J. A., MILLER E. C. — *Cancer Res.*, 1977, 37, 805—814.

Oncogeneza virală

MONICA CRIȘAN

Cuprins

- 10.1. Istoric — 344
- 10.2. Definiția, structura și clasificarea virusurilor oncogene — 346
 - 10.2.1. Definiție — 346
 - 10.2.2. Structură — 347
 - 10.2.3. Clasificare — 348
 - 10.2.3.1. Virusurile cu ADN — 348
 - 10.2.3.2. Virusurile cu ARN (Oncornavirusurile) — 354
- 10.3. Oncogeneza virală experimentală — 359
 - 10.3.1. Evidențierea și izolarea virusului din tumori — 359
 - 10.3.2. Transmiterea tumorilor prin extracte aceluare — 360
 - 10.3.2.1. Factori exogeni — 360
 - 10.3.2.1.1. Specia animalului — 360
 - 10.3.2.1.2. Factori genetici — 360
 - 10.3.2.1.3. Vîrsta animalului — 361
 - 10.3.2.1.4. Starea endocrină — 361
 - 10.3.2.1.5. Starea imunologică a animalului — 362
 - 10.3.2.2. Cultivarea prealabilă a virusului oncogen pe culturi de celule — 362
 - 10.3.2.3. Oncogenitatea la alte specii animale — 363
 - 10.3.2.4. Polimorfismul leziunilor maligne — 363
- 10.4. Infecția virală — 363
 - 10.4.1. Transformarea celulelor — 365
 - 10.4.1.1. Modificările suferite de celulele transformate — 367
 - 10.4.1.2. Persistența genomului viral în celulele transformate — 368
 - 10.4.1.3. Exprimarea genomului viral — 374
 - 10.4.2. Transmiterea naturală a virusurilor oncogene — 375
 - 10.4.2.1. Transmiterea orizontală — 375
 - 10.4.2.2. Transmiterea verticală — 375
- 10.5. Virusurile endogene — 376
- 10.6. Oncogeneza virală — 377
 - 10.6.1. Teoria virogenului oncogen — 378
 - 10.6.2. Teoria protovirusului — 381
 - 10.6.3. Date actuale privind oncogeneza virală — 382
 - 10.6.3.1. Oncogeneza prin retrovirusuri — 382
 - 10.6.3.2. Oncogeneza prin virusuri ADN — 387

Etiologia virotică a cancerului a constituit domeniul cel mai controversat și a dat naștere disputelor celor mai furtunoase din oncogeneza experimentală. La începutul secolului, în 1903, Borrel, unul din elevii lui Pasteur, semnalează împreună cu Bosc posibilitatea originii virotice a unor cancere la animale. În acea perioadă, termenul de „virus” încă nu era bine definit; se presupunea doar că este un agent infecțios foarte mic, inframicroscopic. În lipsa unor tehnici corespunzătoare, singurul test utilizat de cercetători era inocularea unor extracte, filtrate, provenite din țesuturi bolnave, la animale sănătoase. Dacă prin asemenea filtrate se putea transmite boala, se putea presupune că ea este provocată de un virus. Cunoștințele despre bolile infecțioase și etiologia lor erau dominate de postulatele lui Koch. Acestea stabilesc relațiile dintre gazdă și agentul infecțios, relații care trebuiau găsite neapărat dacă un anumit agent era într-adevăr cauza bolii. În cazul cancerului, mulți cercetători au făcut numeroase încercări, soldate însă cu eșecuri. Din acest motiv, lumea științifică a respins ipoteza etiologiei virotice a cancerului, punct de vedere care a dominat net oncologia timp de peste 50 de ani. De fapt, este greu să suspectezi originea infecțioasă a unei boli dacă nu se poate pune în evidență contagiozitatea ei, dacă nu poate fi decelat agentul infecțios prin examinarea țesutului bolnav la microscopul electronic sau obișnuit și dacă boala nu se poate transmite experimental prin inoculare.

Primele dovezi experimentale au fost făcute de Ellermann și Bang (1908) din Copenhaga, care au reușit să transmită leucemia la pui de găină sănătoși, prin injectarea unui filtrat de sânge provenit de la un pui bolnav. Trei ani mai târziu, la New York, Peyton Rous demonstrează în același mod existența unui virus care induce o tumoră solidă, sarcomul puilor de găină. Aceste cercetări au fost primite de lumea științifică cu neîncredere și au fost combătute destul de vehement, pentru că nu îndeplineau toate dezideratele postulatelor lui Koch; cu urmare, autorul a abandonat orice cercetare în acest domeniu timp de 20 de ani. În 1934, la insistențele lui Richard Shope, care i-a pus la dispoziție virusul papilomului iepurilor, izolat de el, Rous a acceptat să continue cercetările, dar a refuzat să mai lucreze vreodată cu virusul care astăzi poartă numele de RSV (Rous sarcoma virus). Valoarea studiilor lui P. Rous, care a deschis capitolul virusologiei oncologice experimentale, a fost recunoscută abia după 55 de ani de la publicarea lucrării de bază, în 1966, când autorului — la acea dată în vârstă de peste 90 de ani — i s-a decernat premiul Nobel pentru medicină.

Până în 1951 nu au fost făcute progrese semnificative în virusologia oncogenă, deși au apărut unele cercetări remarcabile, ca cele ale lui R. Shope în 1932, care semnalează prima tumoră virotică la mamifere (papilomul iepurelui) și ale lui J. Bittner în 1936, care demonstrează transmiterea carcinomului mamar al șoarecilor prin alăptare, semnalând deci existența „factorului de lapte”.

Deceniul al șaselea este dominat de descoperirile mari din tehnica de cercetare: microscopia electronică, existența unor animale de experiență cu constituția genetică constantă și bine definită (animale inbred) și posibilitatea cultivării țesuturilor și celulelor *in vitro*. Aplicarea acestor tehnici a

TABELUL CRONOLOGIC AL DESCOPERIRII VIRUSURILOR ONCOGENE
(FRIEND, 1977 — MODIFICAT)

VIRUSURILE ARN		VIRUSURILE ADN	
Anul	Felul virusului	Anul	Felul virusului
Înainte de 1950			
1908	Leucemia păsărilor (Ellerman și Bang)	1898	Mixomatoza iepurilor (Sanarelli)
1911	Sarcomul aviar (Rous)	1920	Papilomul bovin (Magelhaes)
1933	Limfomatoza aviară (Furth)	1932	Papilomul oral canin (De Monbreun, Goodpasture)
1934	Limfosarcomul canin (De Monbreun, Goodpasture)	1932	Fibromul iepurelui (Shope)
1934	Carcinomul mamar de șoarece (Bittner)	1933	Papilomul iepurelui (Shope)
1946	Tumori limfatice ale păsărilor (Burmester și colab.)	1936	Papilomul oral de iepure (Parsons și Kidd)
		1938	Carcinomul renal de broască (Lucké)
După 1950			
1951	Leucemia șoarecilor (Gross)	1951	Papilomul cutanat al cailor (Crook și Olsen)
1955	Leucemia șoarecilor (Graffi)	1953	Tumoarea „parotidă” de șoarece (Gross)
1956	Leucemia șoarecilor (Friend)	1953	Fibromul veverițelor (Kelhan și colab.)
1959	Leucemia șoarecilor (Lieberman și Kaplan)		
1960	Leucemia șoarecilor (Moloney)	1955	Fibromul căprioarelor (Shope și colab.)
1962	Leucemia șoarecilor (Rauscher)	1956	Tumoarea renală de broască (Durfée)
1963	Leucemia șoarecilor (Rich)	1957	Virusul polyoma de șoarece (Stewart și Eddy)
1964	Leucemia pisicilor (Jarrett și colab.)	1962	Adenovirusurile umane (Trentin și colab.)
1966	Osteosarcomul șoarecilor (Finkel)	1962	SV-40 al primatelor (Eddy și colab.)
1966	Sarcomul șoarecilor (Moloney)	1964	Virusul EB uman (Epstein și colab.)
1967	Sarcomul șoarecilor (Kirsten și Mayer)	1967	Virusul bolii Marek la găini (Churchill și Biggs)
1969	Leucemia șoarecilor (Abelson și Rabstein)	1969	Herpes virus saimiri la primat (Mélendez și colab.)
1969	Fibrosarcomul felin (Snyder și Theilen)		
1971	Fibrosarcomul la maimuță SiSV (Theilen și colab.)	1972	Herpes virus ateles la primat (Mélendez și colab.)
1972	Limfosarcomul la maimuță Gibon GaLV (Kawakami și colab.)		

făcut posibilă descoperirea multor virusuri tumorale la mamifere într-un interval de timp relativ scurt (tabelul 10.I).

Ca urmare a apariției lucrărilor lui Ludwik Gross, care în 1951 demonstrează pentru prima oară posibilitatea transmiterii leucemiei șoarecilor prin injectarea filtratelor de organe leucemice, studierea virusurilor oncogene primește un nou impuls. Gross a demonstrat că transmiterea leucemiei nu este numai o particularitate a sistemului aviar, deoarece se pot obține rezultate și la mamifere. Intensificarea cercetărilor a făcut posibilă demonstrarea existenței virusurilor oncogene la numeroase specii de animale (șoareci, pisici, câini, iepuri, broaște, maimuțe etc.) de către Friend, Graffi, Moloney, Rauscher, Jarrett, Snyder, Sweet, Méléndez și alții (Tabelul 10.I.). Concomitent, se ajunge la concluzia că postulatele lui Koch sînt inaplicabile în relațiile dintre virusul tumoral și organismul gazdă.

Sfîrșitul deceniului aduce o nouă etapă în oncogeneza virală prin demonstrarea de către Stewart și Eddy că virusul polioma, care induce tumori salivare la șoareci, poate fi cultivat *in vitro* și că are proprietățile generale ale virusurilor. Deci, virusurile tumorale nu sînt niște agenți vagi, misterioși, necultivabili, ci pot fi cultivate și studiate de virusologi. Se stabilește pentru prima oară că virusul acționează după integrarea lui în genomul celulei gazdă.

Descoperirea în 1970 a revers-transcriptazei de către Temin și Mizutani și concomitent de Baltimore, a făcut posibilă înțelegerea modului în care are loc integrarea virusurilor tumorale ARN în ADN celular.

Progresele în microscopia electronică au permis apariția primelor clasificări ale virusurilor. În același timp, posibilitatea cultivării celulelor normale *in vitro* a făcut accesibilă studierea modului în care se desfășoară acțiunea oncogenă a virusului. În sfîrșit, aplicarea unor metode imunologice, de biologie moleculară și genetice a dus la stabilirea unor date fundamentale în relațiile virus tumoral-celulă gazdă. Departe de a fi complet elucidate, mecanismele cancerizării virotice constituie un domeniu în care se fac numeroase cercetări, în care apar permanent date noi, deosebit de interesante. Numărul mare de lucrări din acest domeniu fac ca încercările de trecere în revistă a datelor din literatură să fie în scurt timp depășite din punctul de vedere al actualității informației.

10.2.

Definiția, structura și clasificarea virusurilor oncogene

10.2.1.

Definiție

Virusurile sînt definite de Lwoff (1957) drept entități strict intracelulare, potențial patogene, care au o fază infecțioasă și care: (1) posedă doar un tip de acid nucleic; (2) se multiplică sub formă de material genetic; (3) nu sînt capabile să crească și să sufere fisiune binară și (4) sînt

lipsite de „sisteme Lipmann“ (adică sisteme enzimatic care produc energie). Luria și Darnell (1967) afirmă că virusurile sînt „entități submicroscopice ale căror genomuri sînt elemente de acid nucleic care se replică în interiorul celulelor vii și care, utilizînd mașinăria de sinteză a celulei, determină sinteza elementelor specializate ce pot transfera genomul viral la alte celule“.

Cu alte cuvinte, virusurile sînt agenți infecțioși foarte mici, cu diametrul de 20—300 nm*, vizibili doar la microscopul electronic, care nu se pot replica, adică înmulți, decît în celulele vii.

10.2.2.

Structură

Corpul virusului infecțios matur, numit *virion*, este format la toate virusurile, inclusiv cele oncogene, dintr-un miez de acid nucleic învelit într-o coajă de proteine, denumită *capsidă*. Acidul nucleic responsabil de transmiterea ereditară a caracterelor, adică genomul virusului, este fie acidul ribonucleic (ARN), fie acidul dezoxiribonucleic (ADN), prezent de obicei sub forma unei singure molecule. Capsida este formată din mai multe unități morfologice, *capsomere*, care pot fi văzute la microscopia electronică și care sînt constituite din polipeptide (fig. 10.1). Aceste capsomere sînt asamblate conform unei anumite simetrii: elicoidală, cubică sau complexă (diferită la fiecare virus). Capsida + acidul nucleic pe care îl conține formează *nucleocapsida*. Unii virioni sînt formați numai din nucleocapsidă, ca de exemplu virusurile Papova sau Adeno; aceste virusuri sînt numite goale sau nude (fig. 10.2, 10.3, 10.4). Alte virusuri animale au la exterior un înveliș care înconjură capsida, *anvelopa* (fig. 10.1, 10.5, 10.6, 10.7). Anvelopa se aseamănă structural cu membranele biologice, fiind formată din 2 straturi de fosfolipide, în care sînt incluse proteine și glicoproteine. De fapt, componentele anvelopei provin în mare măsură din membranele celu-

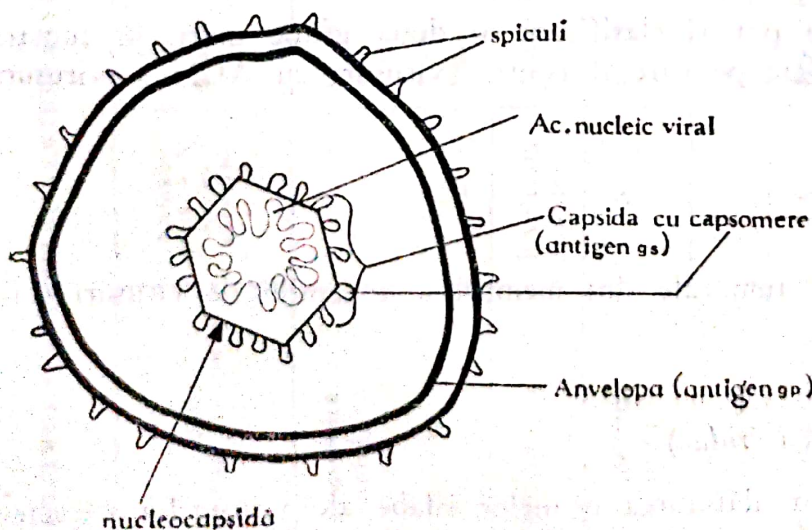


Fig. 10.1. — Schema generală a unui virion (virus matur). Aspectul unui oncornavirus tip C (E. Javetz și colab., 1978 și Levy, 1974 — modificat).

* 1 nm (nanometru sau milimicron) este a mia parte dintr-un μm ($10^{-3}\mu\text{m}$) sau a milioanea parte dintr-un milimetru (10^{-6}mm).

lei infectate (membranele citoplasmatică sau nucleare). Deoarece în structura anvelopei intră lipide solubile în solvenți organici (ca eterul), virusurile cu anvelopă sînt sensibile la eter, spre deosebire de virusurile nude, care sînt rezistente.

Uneori, în timpul replicării virusurilor, capsida poate să înglobeze în interiorul ei acidul nucleic celular, în loc de acidul nucleic viral. Acești *pseudovirioni*, care conțin un acid nucleic „greșit”, au aspectul virusului adevărat la microscopia electronică, dar ei nu se vor putea replica, nu sînt infecțioși, deoarece le lipsește informația genetică potrivită. Pseudovirionii se deosebesc net deci de *virusurile defective*, care sînt particule virale adevărate, avînd însă un defect funcțional ce le împiedică replicarea; își pot corecta acest defect cu ajutorul unui alt virus, denumit *virus helper* (ajutător).

10.2.3.

Clasificare

Clasificarea virusurilor este făcută în funcție de proprietățile lor biologice, fizice și chimice. În ordinea importanței, se ține seama de:

- a) tipul de acid nucleic: ADN sau ARN, format dintr-o spirală simplă, unică (SS) sau dintr-o spirală dublă (DS);
- b) dimensiunile și morfologia virionului: tipul de simetrie, (cubică, eliocidală), numărul de capsomere și prezența membranelor;
- c) susceptibilitatea față de agenți fizici și chimici, în special față de eter;
- d) proprietățile imunologice, caracterele antigenice;
- e) modul de transmitere în natură;
- f) tropismele celulare, tisulare și gazdele naturale;
- g) leziunile pe care le provoacă;
- h) simptomatologia produsă (tabelul 10.II).

Virusurile oncogene pot fi clasificate în două grupe mari, în funcție de natura acidului nucleic pe care îl conțin: virusuri cu ADN și virusuri cu ARN.

10.2.3.1.

Virusurile cu ADN

Virusurile cu ADN tumorale sînt membri a 4 familii de virusuri (tablelele 10.II și 10.III).

10.2.3.1.1.

Virusurile Papova (papovaviridae)

Numele provine din alăturarea primelor silabe ale virusurilor caracteristice din această familie: v. *papilomului*, v. *poliomului* și v. *vacuolizant simian* (SV—40). Sînt virusuri mici, cu diametrul de 45—55 nm, rezistente la eter, care conțin o spirală dublă de ADN sub formă circulară. Capsida

CLASIFICAREA VIRUSURILOR VERTEBRATELOR ÎN FAMILII PE BAZA MORFOLOGIEI, PROPRIETĂȚILOR FIZICE ȘI CHIMICE
(JAWETZ ȘI COLAB., 1980)

Acidul nucleic din miez	Tipul simetriei capsidei	Virionul (nud — N sau cu anvelopă — A)	Sensibilitate la eter	Nr. de capsomere	Mărimea virionului (în nm)*	Grentatea moleculară a acidului nucleic în virion ($\times 10^6$ daltoni)*	Forma acidului nucleic**	Nr. aproximativ de gene	Familia de virusuri
ADN	icosaedrică (cubică)	N	Rezistență	32 72 252	18—26 45—55 70—90	1,5—2,2 3—5 20—30	SS DS circ. DS	3—4 5—8 30	Parvoviridae Papovaviridae Adenoviridae
		A	Sensibilitate	162	100+	90—130	DS	160	Herpesviridae
	complexă	Învelișuri complexe	Rezistență***		230—400	130—240	DS	300	Poxviridae
ARN	icosaedrică (cubică)	N	Rezistență	32 ?	20—30 60—80	2,0—2,8 12—19	SS DS segm.	6—9 20—30	Picornaviridae Reoviridae
		A	Sensibilitate	32?	30—90	4	SS	13	Togaviridae
	necunoscută sau complexă	A	Sensibilitate		50—300 80—130 ≈ 100	3—5 9 7—10	SS segm. SS SS segm.	10 30 20—30	Arenaviridae Coronaviridae Retroviridae
		A	Sensibilitate		90—100 80—120 150—300 70×175	6—15 5 5—8 3—4	SS segm. SS segm. SS SS	20—50 13 15—25 10—13	Bunyaviridae Orthomyxoviridae Paramyxoviridae Rhabdoviridae
	elicoidală	A	Sensibilitate						

* Diametrul sau diametrul $\times$ lungimea virionului

** Forma acidului nucleic poate fi SS — spirală simplă, DS — spirală dublă (lineară sau circulară).

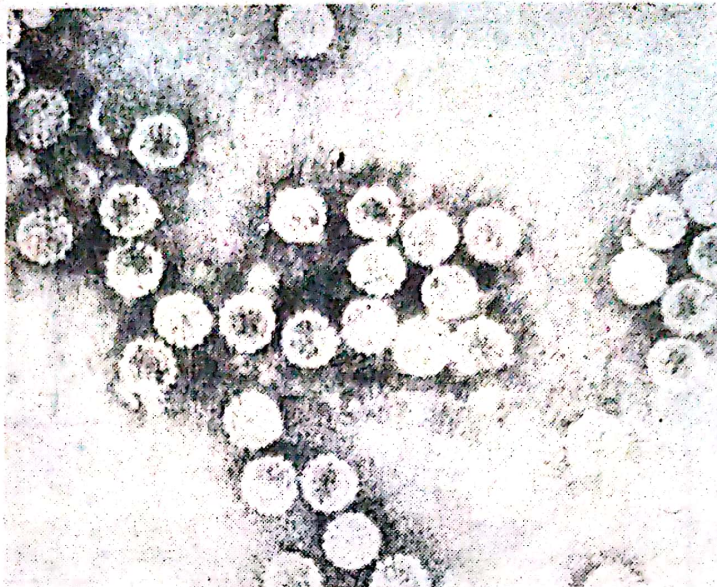
Uneori are forma segmentară

*** Unele sînt rezistente la eter (genul Orthopoxvirus), altele sensibile

CLASIFICAREA VIRUSURILOR TUMORALE CU ADN
(JAWETZ ȘI COLAB., 1980)

Virusul	Gazda naturală	Tumori naturale (la gazda naturală)	Gazde experimentale		Mărime (nm)	Structură	Locul maturării virusului	Persistența virusului infecțios în tumori
			Tumori in vivo	Transformarea celulelor in vitro				
V. Papova								
1. Papiloamelor								
Umane	Om	Da	Om					
Iepure	Iepure	Da	Iepure					
Bovine	Vacă	Da	Vacă	Bovine	45—55	Simetrie icosaedrică	Nucleu	Da
Canine	Ciine	Da	Ciine					
2. Poliomului	Șoarece	Nu	Șoarece, hamster, alte rozătoare	Șoarece, hamster, șobolan				
3. S.V.-40	Maimuță	Nu	Hamster	Hamster, șoarece, maimuțe și om				Nu
4. BK, JC	Om		Hamster	Hamster				
Adenovirusuri								
— Umane tipurile 12, 18, 31, 3, 7, 11, 14, 16, 21	Om	Nu	Hamster	Hamster	70—90	Simetrie icosaedrică	Nucleu	Nu
— Simiene (unele)	Maimuță	Nu	Șobolan	Șobolan				
— Bovine tip 3	Vacă	Nu	Șoarece	Umane				
— Aviar (CELO)	Găină	Nu						
Herpesvirusuri								
— Umane tip 2	Om		Hamster	Hamster				
— Epstein-Barr (EB)	Om		Maimuță	Om, maimuțe	100	Simetrie icosaedrică	Nucleu	Nu
— Maimuțe (Meléndez)	Maimuță	Nu	Maimuță					
— Aviar (Marek)	Găină	Da	Găină					
— Broască (Lucké)	Broască	Da	Broască					
— Iepure (Hinze)	Iepure	Nu	Iepure					
Poxvirusuri								
Molluscum contagiosum	Om	Da	Om		230 × 300	Simetrie complexă	Citoplasma	Da
Yaba	Maimuță	Da	Maimuță					
Fibroame-mixoame	Iepure, veveriță, căprioară	Da	Iepure, veveriță, căprioară					

Fig. 10.2. — Virusul SV₄₀ evidențiat prin „colorația negativă” la microscopia electronică. Se remarcă capsida virusurilor formată din 72 de capsomere aranjate într-o structură icosaedrică (W. Bernhard, 1967).



are o simetrie *cubică*, fiind formată din 72 de capsomere (fig. 10.2). Virusurile Papova dau infecții cronice, latente și gazdele naturale și toate sînt oncogene la unele specii de animale (tabelul 10.III).

Pîna în prezent sînt descrise:

- virusurile papilomului: uman (negi), iepurilor, cornutelor și cîinilor;
- virusurile poliomului șoarecilor;
- virusurile vacuolizante ale maimuțelor (SV—40) și iepurilor.

În ultimii ani au fost izolate două virusuri umane asemănătoare cu virusul SV-40, care posedă proprietățile oncogene: virusul JC și BK.

10.2.3.1.2.

Adenovirusurile (adenoviridae)

Sînt virusuri de dimensiuni mijlocii, 70—90 nm, cu ADN dublu spiralat, care prezintă simetrie cubică, avînd forma unui icosaedru compus din 252 de capsomere și prezentînd niște proeminențe proteice filamentoase, spiculi, ca niște cuie (fig. 10.3, 10.4). Au fost descrise la oameni cel puțin 34 de tipuri antigenice, din care tipurile 12, 18 și 31 sînt puternic cancerigene la hamsterii aurii nou-născuți, iar tipurile 3, 7, 11, 14, 16 și 21 sînt slab cancerigene. Din adenovirusurile izolate de la animale (maimuțe, bovine, cîini, porci, șoareci, păsări) s-au dovedit tumorigene la hamster unele adenovirusuri simiene, adenovirusul tip 3 bovin și cel aviar (CELO). În general, adenovirusurile determină infecții respiratorii acute la gazdele naturale (cu catar, febră, faringită și/sau conjunctivită), de scurtă durată sau asimptomatice.

10.2.3.1.3.

Herpesvirusurile (herpesviridae)

Nucleocapsida virusului are un diametru de aproximativ 100 nm și este formată dintr-un acid nucleic dublu spiralat și din 162 de capsomere dispuse într-o simetrie cubică (icosaedru). Nucleocapsida este înconjurată

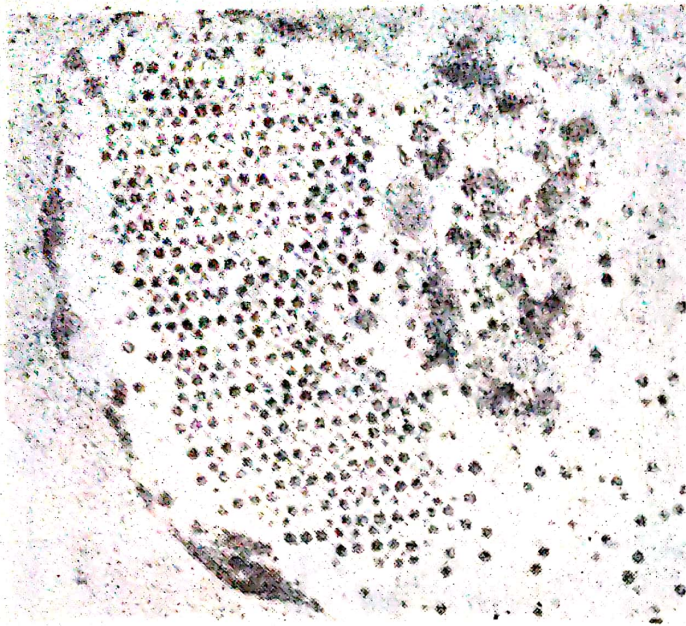


Fig. 10.3. — Aspectul adenovirusului tip 12 la microscopia electronică. Se observă particule dispersate și organizate într-un cristal în interiorul nucleului celulei (W. Bernhard, 1964).

de o anvelopă care mărește dimensiunile virionului la 200 nm. Herpesvirusurile unor animale au proprietăți oncogene recunoscute:

— herpesvirusurile simiene (herpesvirusul unor maimuțe): *Herpesvirus saimiri* (HVS), izolat de la maimuța veveriță și *ateles* (HVA), izolat de la maimuța păianjen, induce limfoame la unele specii de maimuțe mici din America de Sud [la saguini, maimuța veveriță (squirrel monkey), la maimuța bufniță sau alte marmosete];

— herpesvirusul bolii Marek (MDV) induce neuro-limfomatoza aviară;

— herpesvirusul limfomului Hinze la iepuri;

— herpesvirusul broaștelor leopard (LHV) induce adenocarcinomul renal Lucké.

Herpesvirusurile umane tip 1 și 2, virusul Epstein-Barr și citomegalovirusul au fost incriminate în unele malignități umane.

10.2.3.1.4.

Poxvirusurile (poxviridae)

Din această familie de virusuri binecunoscute ca agenți etiologici ai variolei și vaccinei fac parte mai multe genuri, din care genul *Leporipox-*

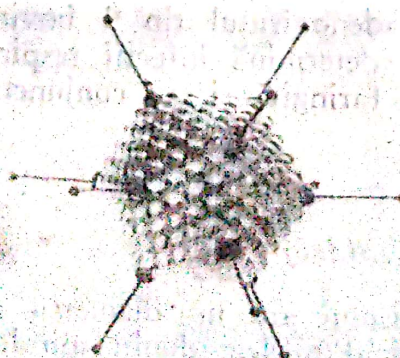
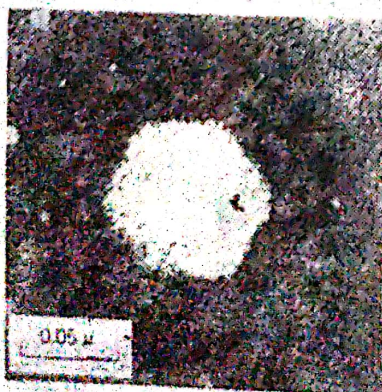


Fig. 10.4. — Evidențierea la microscopul electronic prin „colorație negativă” a virionului de adenovirus (stg.). Se vede structura capsidei formată din capsomere dispuse simetric. Simetria este cubică, formând un icosaedru realizat din 252 de capsomere. Se remarcă spiculi sub formă de ace cu gămălie. În dreapta, modelul structurii capsidei (Valentine și Pereira, 1965).

CLASIFICAREA VIRUSURILOR TUMORALE CU ARN — ONCORN VIRUSURI
(JAWETZ ȘI COLAB., 1980 modificat)

TABELUL 10.IV

Virusul	Pre-sențirea utilizată	Gazda naturală	Tumori naturale (la gazdă)	Gazde experimentale		Mărime nm	Morfologie (tipul particulei)	Zona maturării virusului	Persistența virusului infecțios în tumori
				Tumori in vivo	Transformarea celulelor in vitro				
<i>Complexul aviar</i> — Leucemii — Sarcoame (Rous)	ALV* RSV	Găini	Da	Găini, curci Păsări, rozătoare, maimuțe	Găini** aviare, rozătoare, maimuțe bovine, om	70—100	C	Înmugurire în membrana celulară	Da
<i>Complexul murin</i> — Leucemii — Sarcoame	MuLV MSV	Șoarece	Da Nu	Șoarece, șobolan, hamster Șoarece, șobolan, hamster	Șoarece*** Șoarece, șobolan, hamster		C		
<i>Complexul felin</i> — Leucemii — Sarcoame	FeLV FeSV	Pisică	Da	Pisici Pisici, câini, iepuri, maimuță	Pisici, câini, om, maimuță		C		
<i>Primate</i> — Sarcoame maimuța linoasă — Leucemii gibbon	SiSV-1 GaLV	Maimuță Maimuță	Da	Maimuțe	Maimuțe		C		
<i>Alte specii</i> — Viperă — Leucemii hamster — Leucemii șobolan — Limfom bovin	HaLV RaLV	Viperă Hamster Șobolan Vacă	Da ? ? Da				C C C C		
V. tumori mamare murine Bittner	MuMTV	Șoarece	Da	Șoarece			B		
V. carcinomului mamar maimuțe (Mason-Pfizer)	M-PMV	Maimuțe	?		Maimuță		D		

- * Pentru tulpinile ALV helper asociate cu tulpinile de RSV defective — tulpina Brayn (BH-RSV) se utilizează termenul RAV (Rous-associated virus);
 ** Numai cu virusul mieloblastozei aviare și virusul eritroblastozei aviare;
 *** Numai cu tulpina Abelson a MuLV.

virusuri induc fibroame și mixoame benigne la rozătoare. Un alt membru al acestei familii numeroase, virusul Yaba, induce histiocitoza benignă a maimuțelor. Acest virus este foarte asemănător cu virusul vaccinei și cu virusul care dă *molluscum contagiosum* la om (tabelul 10.III). Deoarece afecțiunile determinate de aceste virusuri nu sînt maligne, nu ne vom opri asupra lor.

10.2.3.2.

Virusurile cu ARN (oncornavirusurile)

Virusurile ARN oncogene fac parte din familia retrovirusurilor (adică virusuri care conțin o enzimă numită revers-transcriptază), fiind cuprinse toate într-o subfamilie denumită *oncornavirusuri* (oncornaviridae), de la *oncogenic RNA* (RNA este denumirea internațională a acidului ribonucleic — ARN). Oncornavirusurile sînt asemănătoare între ele ca structură, compoziție chimică și sensibilitate la agenți fizici și chimici. Sînt virusuri de dimensiuni medii, de aproximativ 100 nm, formate dintr-o nucleocapsidă care conține un ARN monocatenar (spirală simplă) de 7×10^6 daltoni, înconjurat de mai multe învelișuri. Pe baza aspectului morfologic, la microscopia electronică, au fost descrise 4 tipuri de „particule virale”: A, B, C și D (fig. 10.5, 10.6, 10.7, 10.8 și tabelul 10.V).

TABELUL 10.V

PARTICULELE A, B ȘI C ALE ONCORNAVIRUSURILOR, ASPECTUL ELECTRONO-MICROSCOPIC
(G. MATHÉ ȘI A. CATTAN: Cancerologie, 1976)

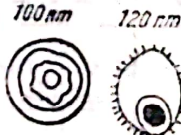
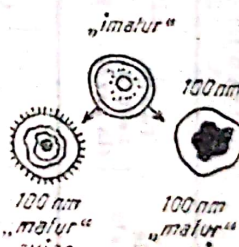
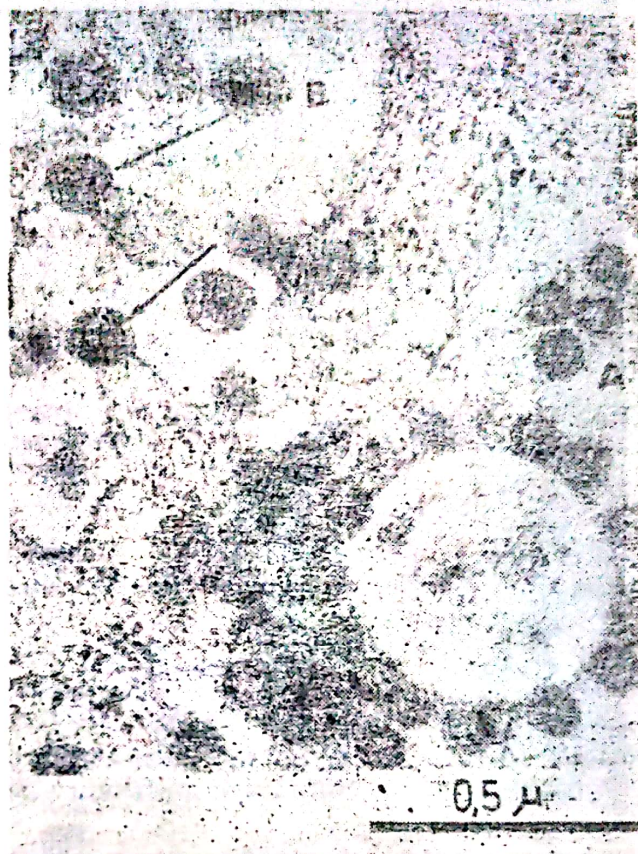
	Particula A		Particula B	Particula C
	In cisterne	In hialoplosmă	„imatură” „matură”	
Morfologie in secțiuni ultrafine (×200 000)				
Localizare celulară	Cisterne ergastoplasmice	Hialoplasma (substanța funda- mentală a cito- plasmei)	Extrahialoplasmice (in vacuo- le, aproape de suprafața celulei și in spațiile intercelulare)	
Formare	„Înmugurire” din membranele ergastoplasmice	Aproape de zona Golgi	„Înmugurire” din membrana ce- lulei	
Tumori	— Ascita Ehrlich — Plasmocitoame — Sarcoame in- duse chimic	Tumori mamare plasmocitoame leucemii	Tumori mamare	Leucemii și sarcoame
Activitate biologică: — replicare — oncogenă	? ?	? ?	++ ++	++ ++

Fig. 10.5. — Imagine electron-microscopică a unei celule de cancer mamar de șoarece. În citoplasmă se văd particule virale tip A (imature), iar la suprafața celulei se văd înmugurind particule tip B (virusul Bittner), care se eliberează în spațiul intercelular (W. Bernhard, 1967).



(a) **Particulele tip A** au un aspect de cocardă, cu o zonă centrală clară, care nu este electron-densă, înconjurată de două învelișuri (fig. 10.5). Aceste particule apar în interiorul celulei în anumite zone:

- în hialoplasma celulei, situate în apropierea aparatului Golgi. Aceste particule sînt precursorii particulelor B și au fost observate în cancerele mamare și ulterior în plasmocitoame și unele leucemii murine;

- în interiorul cisternelor din ergastoplasmă. Morfologia este similară, dar au fost găsite în ascita Ehrlich, plasmocitoame și sarcoame induse chimic, iar semnificația lor nu este încă stabilită.

(b) **Particulele tip B** (fig. 10.6) apar extracelular, prin deplasarea particulelor de tip A și ieșirea lor printr-un fenomen de înmugurire la membrana celulară. Pot să apară sub două forme:

- forma tină, „imatură”, sferică, asemănătoare cu particula tip A, dar care mai prezintă încă un înveliș exterior format din cele două straturi lipoproteice ale membranei celulei gazdă;

- forma „imatură”, virionul infecțios, cunoscut sub numele de virusul Bittner sau factorul de lapte. Virionul tip B este mai mare, are o zonă densă, opacă la electroni (denumită *nucleoid*) așezată excentric, iar la suprafața învelișului extern are niște spiculi, protuberanțe glicoproteice, cu lungimea de 10 nm, care se aseamănă cu niște cuie sau ace cu gămălie (peplomere).

(c) **Particule tip C** (fig. 10.7, 10.8, 10.9) au fost observate în sarcoame și leucemii pe care le induce la multe specii animale (tabelul 10.V). Ca și în cazul tipului B, aspectul morfologic depinde de gradul de maturare a virusului:

- *particula imatură*, de formă sferică, cu diametru de 100 nm, cu o zonă centrală clară, electron-transparentă (deci este lipsită de nucleoid), înconjurată de două învelișuri, din care



Fig. 10.6. — Aspectul electron-microscopic al virusului adenocarcinomului mamar de șoarece, oncornavirus tip B. Se observă că nucleocapsida este excentrică în comparație cu virusurile tip C (fig. 10.8), care au nucleocapsida centrală (L. Dmochowski, 1973).

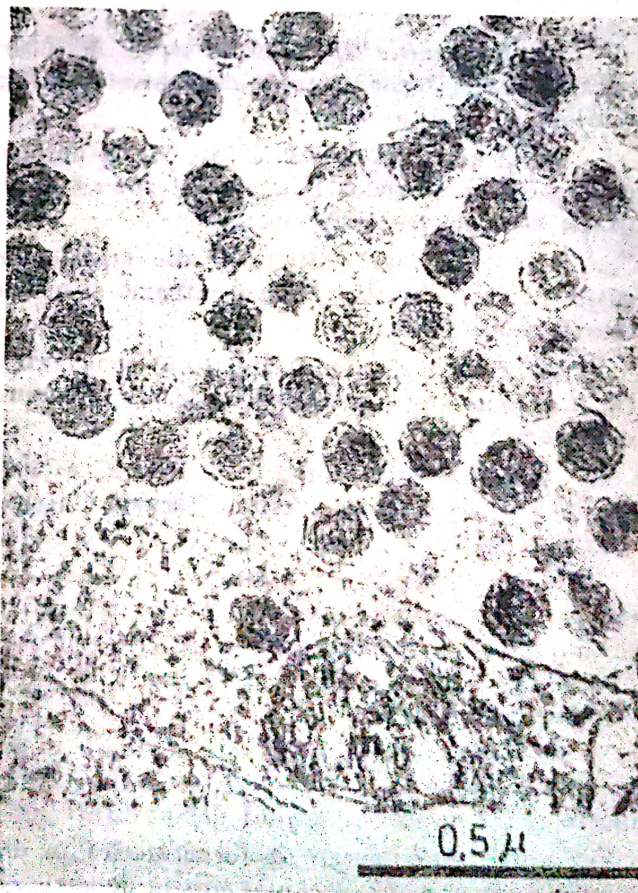


Fig. 10.7. — Virusul leucemiei limfice de șoarece (MuLV). Se remarcă particulele virale tip C în spațiul intercelular (m = mitocondrie) (W. Bernhard, 1967).

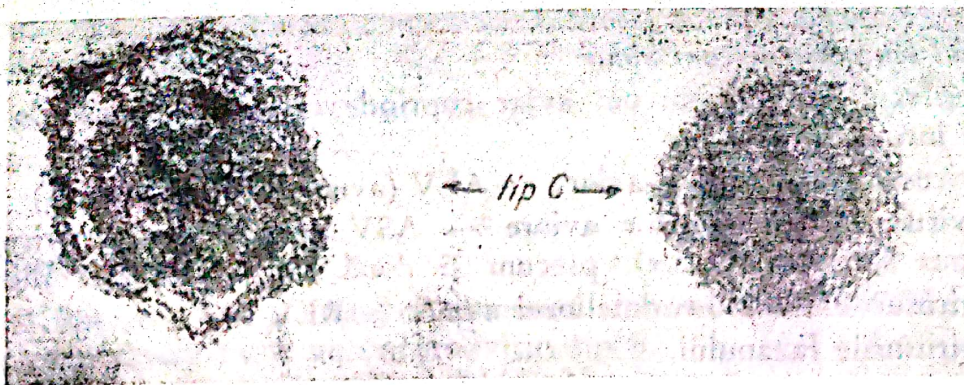


Fig. 10.8. — În dreapta, virusul leucemiei murine (MuLV), care este un oncornavirus tip C. În stînga, particulă izolată dintr-o colecție pleurală a unei bolnave cu epiteliom mamar (L. Dmochowski, 1973).

unul este extrem de fin, adesea invizibil și un al doilea, bistratificat, provenit din membrana celulei gazdă. Morfologia acestei particule este deci similară cu cea a particulei B imature:

— *particula matură* (W. Bernhard, 1959) se aseamănă cu particula B matură, cu deosebire că nucleoidul este situat central. Se pare că aspectul electrono-opac al nucleoidului este datorat spiralei de acid nucleic (asociată cu nucleoproteine — probabil revers-transcriptaza), care este mai puțin încolăcită decît în particula B, unde supraîncolăcirea acidului nucleic face ca acesta să ocupe o zonă foarte mică, excentrică, creînd astfel un halou electrono-transparent.

Particula C matură apare puțin diferit de cea aviară la rozătoare, în sensul că nucleoidul central are un contur mai neregulat, neregularitate mai evidentă în cazul învelișului extern, care are un aspect „șifonat” (fig. 10.7, 10.8).

Ca și în cazul particulelor B, eliberarea virionilor din celulă se face tot prin înmugurire (fig. 10.9).

(d) *Particula tip D* pare să fie deosebită morfologic și este evidențiată în tumoarea mamară a maimuței Rhesus (virusul Mason-Pfizer) (Dalton și colab., 1975).

Cu excepția virusului tumorii mamare murine, oncornavirusurile sînt clasificate în funcție de specia animală gazdă, căreia îi induc sarcoame sau leucemii, de unde provine și denumirea de complexe leucemii-sarcoame (tabelul 10.V).

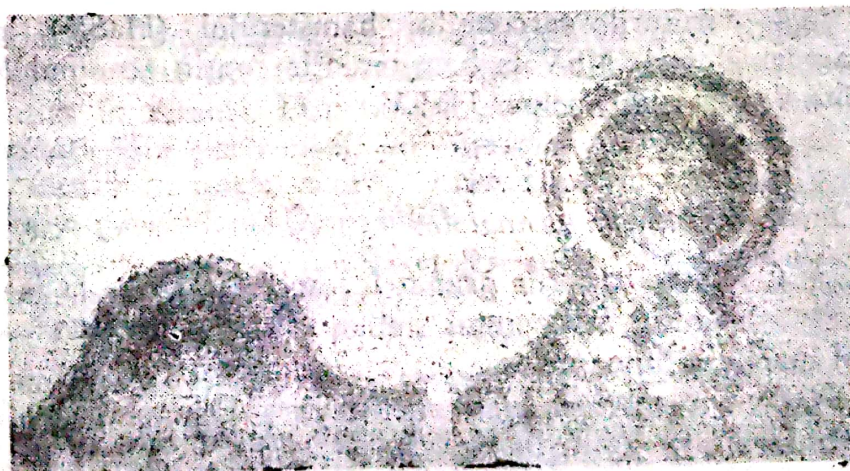


Fig. 10.9. — Virusul leucemiei murine Friend: diferite stadii de maturare a virusului, prin „înmugurire” la suprafața celulei. Particula virală este pediculizată și apoi eliberată în spațiul intercelular (Luria și colab., 1978).

10.2.3.2.1.

Complexul leucemie-sarcom aviar

Complexul leucemie-sarcom aviar cuprinde cele două grupe de virusuri antigenic înrudite:

- virusurile leucemiilor aviare — ALV (avian leukemia viruses)
- virusurile sarcoamelor aviare — ASV (avian sarcoma viruses) sau RSV (Rous sarcoma viruses), precum și două grupe antigenic distincte:
 - virusurile reticulo-endoteliozei aviare — REV și
 - virusurile fazanului.

10.2.3.2.2.

Complexul leucemie-sarcom murin

— Virusurile leucemiilor murine (MuLV — murine leukemia viruses) sînt numeroase și sînt denumite de la numele autorului care le-a identificat: Gross (G-MuLV), Friend (F-MuLV), Moloney (M-MuLV), Rauscher (R-MuLV) etc.

— Virusurile sarcoamelor murine — MSV — cuprind 5 tulpini diferite: Harvey (H-MSV), Finkel, Jinkins și Biskis (FJB-MSV), Moloney (M-MSV), Kirsten (Ki-MSV) și Gazdar (GZ-MSV).

10.2.3.2.3.

Complexul leucemie-sarcom felin

Sînt virusuri care induc:

- leucemie la pisici — FeLV;
- sarcoame la pisici — FeSV și la alte specii ca: iepuri, câini și maimuțe.

10.2.3.2.4.

Complexul leucemie-sarcom la hamster

Virusurile sînt similare morfologic cu cele murine, dar antigenic deosebite:

- virusurile leucemiei hamsterului (HaLV);
- virusurile sarcomului hamsterului (HaSV), produse prin inducerea sarcoamelor cu MSV la hamster. Ele conțin genomul MSV și anvelopa provenită de la virusul helper HaLV.

10.2.3.2.5.

Oncornavirusurile primatelor

Oncornavirusurile primatelor au fost izolate la maimuțe:

- virusul sarcomului simian tip I — SiSV-1 — dintr-un fibro-sarcom al maimuței lînoase;
- virusul leucemiei mielogene a gibbonului — GaLV (gibbon ape leukemia virus).

10.2.3.2.6.

Alte oncornavirusuri tip C

Alte oncornavirusuri tip C au fost găsite la vipere, șobolani — RaLV (rat leukemia virus), cobai și bovine.

10.2.3.2.7.

Virusul Bittner

Virusul Bittner sau al tumorii mamare murine — MuMTV (murine mammary tumour virus) este un oncornavirus tip B.

10.2.3.2.8.

Virusul carcinomului mamar al maimuțelor

Virusul carcinomului mamar al maimuțelor (Mason-Pfizer) — M-PMV este un oncornavirus de tip D.

10.3.

Oncogeneza virală experimentală

Studiile experimentale au demonstrat că postulatele lui Koch nu sînt aplicabile la studiul virusurilor oncogene. În foarte multe cazuri este extrem de dificilă sau chiar imposibilă atît evidențierea virusurilor în tumorile maligne, cît și transmiterea cancerului prin filtrate acelulare la animale sănătoase. Un exemplu elocvent devenit clasic este cel al virusului papilomului iepurilor descris de R. E. Shope, găsit în tumorile iepurilor sălbatici. O întîmplare a dus la o descoperire deosebit de interesantă: Peyton Rous reia experiențele lui Shope, dar neavînd la îndemînă iepuri sălbatici inoculează virusul la iepuri de casă. La această rasă virusul nu mai induce tumori benigne inofensive (papilomul infecțios al iepurelui), ci dă naștere la tumori maligne, veritabile cancere, care metastazează și omoară animalele de experiență. Faptul uimitor este că din aceste cancere, induse virotic, Rous nu a mai putut izola nici un virus. Se părea deci că virusul dispare o dată cu nașterea cancerului.

10.3.1.

Evidențierea și izolarea virusului din tumori

Numeroase alte experiențe demonstrează că, deși formarea unei tumori maligne experimentale a fost indusă virotic, virusul responsabil de apariția ei nu mai poate fi evidențiat în tumori. Dar faptul că o tumoare nu conține virus observabil la microscopia electronică, nu înseamnă neapărat că ea nu a fost generată de un virus. În unele cazuri, virionii se pot evidenția numai în anumite circumstanțe particulare. De exemplu:

a) Inocularea virusului polioma la hamsterul nou-născut determină apariția unor sarcoame renale. Deși cu 2—3 săptămîni înainte de apariția tumorii se pot evidenția ușor în rinichi particulele virale, după dezvoltarea sarcomului nu se mai poate găsi nici o particulă (Howatson și Almeida, 1960).

b) Herpesvirusul Lucké, care induce carcinomul renal al broaștelor leopard (*Rana pipiens*), poate fi găsit fără nici o dificultate în tumorile provenite de la broaște care hibernează; în anotimpurile calde — vara și toamna — dispore. Dacă însă broaștele sînt cufundate în lacuri reci, după 52 de zile virusul reapare în tumoare (McKinnell și Ellis, 1972).

c) Miller și colab. (1969) au reușit să evidențieze particule virale în limfosarcomul bovin numai după cultivarea *in vitro* a celulelor tumorale.

d) Uneori virusul oncogen poate fi găsit în alte țesuturi decât cele pe care le-a malignizat. Astfel, neorolinfomatoza găinilor sau boala Marek, caracterizată prin paralizii datorate infiltrării trunchiurilor nervoase cu celule leucemice, este dată de un virus ADN din familia herpesvirusurilor. Particulele virale pot fi izolate numai din foliculii penelor găinilor bolnave.

e) În sarcoamele induse prin inocularea la hamsterii sau șobolanii nou-născuți a virusului SV-40 sau adenovirusurilor nu se mai pot evidenția aceste particule virale.

10.3.2.

Transmiterea tumorilor prin extracte aceluare

Am arătat în istoric că unul din motivele principale ale contestării existenței virusurilor oncogene a constat în eșecurile repetate ale încercărilor de a se transmite tumorile, la animale sănătoase, prin filtrate aceluare. S-a văzut că pentru apariția tumorilor nu este suficientă simpla prezență a virusului oncogen, ci sînt necesari factori favorizanți (sau cofactori) endogeni și exogeni.

10.3.2.1.

Factorii exogeni

Din factorii exogeni s-au dovedit foarte importanți:

10.3.2.1.1.

Specia animalului

Există virusuri oncogene numai pentru anumite specii animale. Astfel, virusul sarcomului Rous (RSV), deși inducea sarcoame aviare, nu reușea niciodată să inducă același tip de tumoare la mamifere. Acesta a fost unul din motivele pentru care a fost contestată existența acestui virus, susținîndu-se că agenții care induceau tumoarea nu erau în realitate virusuri, iar sarcoamele induse nu erau cancere reale, RSV fiind considerat doar un artificiu de laborator. S-a constatat ulterior că unele tulpini de RSV sînt carcinogene și la mamifere [tipul Carr-Zilber, tipul Praga (Klement și Svoboda) sau tipul Schmidt-Ruppin]. În realitate însă, tocmai aceste tipuri ar putea fi considerate ca artificii de laborator, pentru că reprezintă de fapt rezultatul unor pasaje și nu există ca atare în natură.

Chiar în cadrul aceleiași specii de animale, de exemplu la șoareci, există unele linii pure de animale (inbred): linia AKR sau C58, care au o incidență mare a leucemiilor și la care se poate evidenția virusul oncogen. Alte linii însă nu fac leucemii și nu au virus: C3H sau NIH. Carcinomurile mamare murine sînt foarte frecvente la linia C3H, iar particulele virale apar în laptele femelelor din această linie (factorul de lapte).

10.3.2.1.2.

Factori genetici

Rezistența la leucemie murină și la virusul leucemiei sau sensibilitatea la acest virus pare să fie dependentă de cel puțin 3 gene: locusurile 2V

(AkV-1 și AkV-2) care induc virusul, FV-1 care controlează răspîndirea lui și, se pare, și sistemul H-2 (de histocompatibilitate) joacă un rol important (Rowe, 1973; Lilly și Pincus, 1973). Cele mai bine studiate sînt genele FV-1, al căror produs poate să reducă de peste 100 de ori susceptibilitatea celulelor animalului la anumite oncornavirusuri. Genele FV-1 sînt capabile să prevină inducerea leucemiei, chiar dacă infecția cu virus este ereditară. Printre genele legate de sistemul de histocompatibilitate murin, H-2, a fost descrisă gena Rgv-1, ale cărei alele pot să facă un animal rezistent la inducerea leucemiei cu virusul leucemiei murine Gross. Nu este exclusă participarea genelor Ir (ale răspunsului imun) în leucemogeneză.

10.3.2.1.3.

Vîrsta animalelor

L. Gross a constatat în 1961 că leucemia spontană a șoarecilor (liniile inbred AKR sau C58) poate fi transmisă prin filtrate acelulare la animale sănătoase din liniile care nu fac leucemie (linia C3H) numai dacă inocularea se face la animale nou-născute. Transmiterea leucemiei la animalele adulte eșuează totdeauna. Ulterior s-a demonstrat că majoritatea virusurilor oncogene induc cancerele numai prin inocularea lor la puii nou-născuți: virusul polioma (tumori ale glandelor salivare la șoareci), Bittner, SV-40, adenovirusurile umane etc.

La liniile de șoareci C3H și DBA, cancerul mamar apare cu o frecvență de aproape 100% la femelele adulte, fapt care a dus la concluzia că la această linie murină boala este ereditară. Bittner a demonstrat că dacă puii proveniți de la femele C3H sînt alăptate de mame din alte linii de șoareci (considerate rezistente la acest tip de cancer), nu mai fac cancere mamare. În schimb, puii mamelor considerate rezistente, dacă erau alăptati de femele din linia C3H, făceau carcinoame mamare la vîrsta adultă. Apărea evident faptul că factorul de producere a carcinomului mamar murin este transmis prin lapte („factorul de lapte“).

Și în alte viroze „banale“ are o mare importanță vîrsta la care are loc infecția. De exemplu, virusul Coxsackie poate să determine paralizii la șoarece numai dacă este inoculat în primele 48 de ore după naștere (Dalldorf, 1949).

S-a constatat că același virus oncogen poate să dea, în funcție de vîrsta animalului, afecțiuni diferite. Astfel, prin inocularea RSV la găini sau pui mari (cu penele formate), se obțin sarcoame; în schimb, inocularea la embrioni sau pui nou-născuți determină apariția unei boli hemoragice fatale.

10.3.2.1.4.

Starea endocrină

Un exemplu elocvent este oferit de experiențele lui A. Lacassagne, care demonstrează dependența hormonală a virusului Bittner: administrarea testosteronului la femele din linia C3H scade considerabil incidența bolii și invers, administrarea foliculinei la masculi din aceeași linie, purtători de virus, duce la apariția carcinomului mamar și la acest sex, considerat indemn.

Furth (1963) a arătat că asocierea la virusul Bittner a hormonului mamotrop (prolactina) determină apariția de tumori mamare la mulți din șoarecii adulți din liniile care în mod obișnuit nu fac spontan aceste carcinoame, în timp ce administrarea aceleiași cantități de virus, fără hormon, nu induce tumori. Același autor a constatat, în cazul leucemiilor limfatice murine, că ovariectomia inhibă dezvoltarea bolii, iar orhiectomia o stimulează.

10.3.2.1.5.

Starea imunologică a animalului

Succesul inducerii malignității prin virusuri oncogene la animalele nou-născute este atribuit deficitului imunologic al acestor animale, care nu au încă competența imunologică a animalelor adulte.

Deprimarea imunității prin iradiere, chimioterapie sau alte modalități, favorizează apariția tumorilor induse de virusuri. Astfel, L. Gross (1958, 1959) a arătat că dacă șoarecii din linia care nu face spontan leucemie (C3Hf sau C57BL) sînt supuși unor iradieri repetate cu Rx, la aproximativ 80% din animale apare leucemia. Faptul că din celulele leucemice ale acestor șoareci se pot izola virusuri, care prin trecerea lor la șoareci nou-născuți induc leucemie, demonstrează că leucemia indusă prin iradiere este dată de un virus și că deprimarea imunologică realizată de razele Röntgen validează potențialul oncogen al virusului.

Transmiterea tumorilor maligne are și alte particularități ca de exemplu:

10.3.2.2.

Cultivarea prealabilă a virusului oncogen pe culturi de celule

Virusul SV40 sau adenovirusurile umane induc sarcoame la rozătoarele nou-născute, după cultivarea lor *in vitro*. Extractele acelulare din aceste sarcoame nu pot însă reproduce boala. Precultivarea virusului polioma pe țesuturi embrionare de șoarece determină o creștere impresionantă a potențialului oncogen al virusului, precum și posibilitatea de a induce tumori la alte specii de animale, ca hamsterii sau șobolanii nou-născuți (Stewart și Eddy, 1959). Chiar potențialul oncogen al anumitor virusuri depinde parțial de condițiile naturale sau experimentale în care se dezvoltă. Experimental este posibil să se pornească de la un virus neoncogen, cu infecțiozitate slabă, care apoi să fie convertit spre un virus puternic oncogen, prin pășări pe culturi de celule (Rapp și Todaro, 1978).

10.3.2.3.

Oncogenitatea la alte specii animale

Numeroase virusuri oncogene sînt inofensive la specia animală care constituie gazda lor naturală, dar devin puternic oncogene prin inoculare la animalele nou-născute ale altor specii (tabelul 10.III.). De exemplu, virusul SV40, inofensiv pentru maimuța Rhesus, gazda lui naturală, a fost administrat involuntar la milioane de copii, prin vaccinarea antipoliomielitică cu vaccinul Salk, deoarece pentru realizarea vaccinului virusul poliomielitei a fost cultivat pe celule de rinichi de maimuță Rhesus, celule care conțineau virusul SV40. Cu toate acestea, nu au fost semnalate tumori maligne la copiii vaccinați și nici

o creștere a incidenței cancerului atunci când acești copii au ajuns adulți. Dacă este însă inoculat la puii nou-născuți de hamster, mastomys sau șoarece, virusul SV40 determină apariția unor limfosarcoame sau leucemii (Diamandopoulos, 1973).

Trentin (1932) și alți autori au arătat că unele tipuri de adenovirusuri umane, care la om — gazda lor naturală — determină inflamații traheo-bronșice trecătoare, devin oncogene prin administrarea lor la hamsterul nou-născut (cancere pulmonare). Oncogenicitatea adenovirusurilor la rozătoare (hamster, șobolani, mastomys) depinde de tipul virusului: tipurile 12, 18 și 31 sînt puternic oncogene, iar tipurile 3, 7, 11, 14, 16 și 21 sînt slab oncogene.

10.3.2.4.

Polimorfismul leziunilor maligne

S-a observat că același virus oncogen poate să inducă tumori diferite atît ca localizare, cît și ca aspect histopatologic, ceea ce denotă lipsa unui tropism celular caracteristic la unele virusuri. Virusul Polyoma, de exemplu, poate induce formarea a 23 de tipuri diferite de tumori: carcinoame mamare sau renale, carcino-sarcoame, fibro-sarcoame, hemangioame, tumori medulo-suprarenaliene, timice etc. Virusurile leucemiilor murine (MuLV) determină apariția unor leucemii și limfoame extrem de variate histo-patologic: de la leucemie limfatică la leucemie mieloidă, de la limfo-sarcoame la leziuni similare bolii Hodgkin.

Rezumînd datele de oncogeneză virală experimentală, R. Shope a enumerat în 1966 „căile perfide și ocolite” ale virusurilor oncogene în producerea malignității:

- (a) necesitatea unor condiții speciale pentru a-și demonstra oncogenitatea;
- (b) necesitatea unui timp lung de latență;
- (c) răspîndirea foarte largă a virusurilor în natură, dar producerea de infecții inaparente la gazdele naturale;
- (d) oncogenitatea la gazde străine;
- (e) virusul infecțios (virionul) poate să nu fie prezent în tumorile pe care le-a indus;
- (f) un virus oncogen poate să atace celule țintă diferite.

10.4.

Infecția virală

Este bine cunoscut faptul că virusurile nu au o activitate metabolică proprie, deci nu pot să dea naștere la descendenți decît dacă utilizează activitatea metabolică a celulei pe care o parazitează. Celula gazdă trebuie să-i furnizeze totul: nu numai materia primă și energia necesară pentru formarea acizilor nucleici și a proteinelor descendenților, ci și întregul mecanism, întregul aparataj necesar pentru realizarea sintezei acestora. Virusul aduce, de fapt, numai informația necesară pentru formarea noilor generații, informație conținută în acidul său nucleic.

După pătrunderea virusului într-o celulă susceptibilă, acidul nucleic viral se multiplică prin formarea mai multor copii de acid nucleic, fiecare copie constituind acidul nucleic al unui nou virus (replicarea virală). Producerea

noilor generații de virus duce la lizarea celulei și eliberarea de virus infecțios, care poate să atace celulele vecine (fig. 10.10). Această formă „productivă” a infecțiilor virale este caracteristică pentru majoritatea virusurilor.

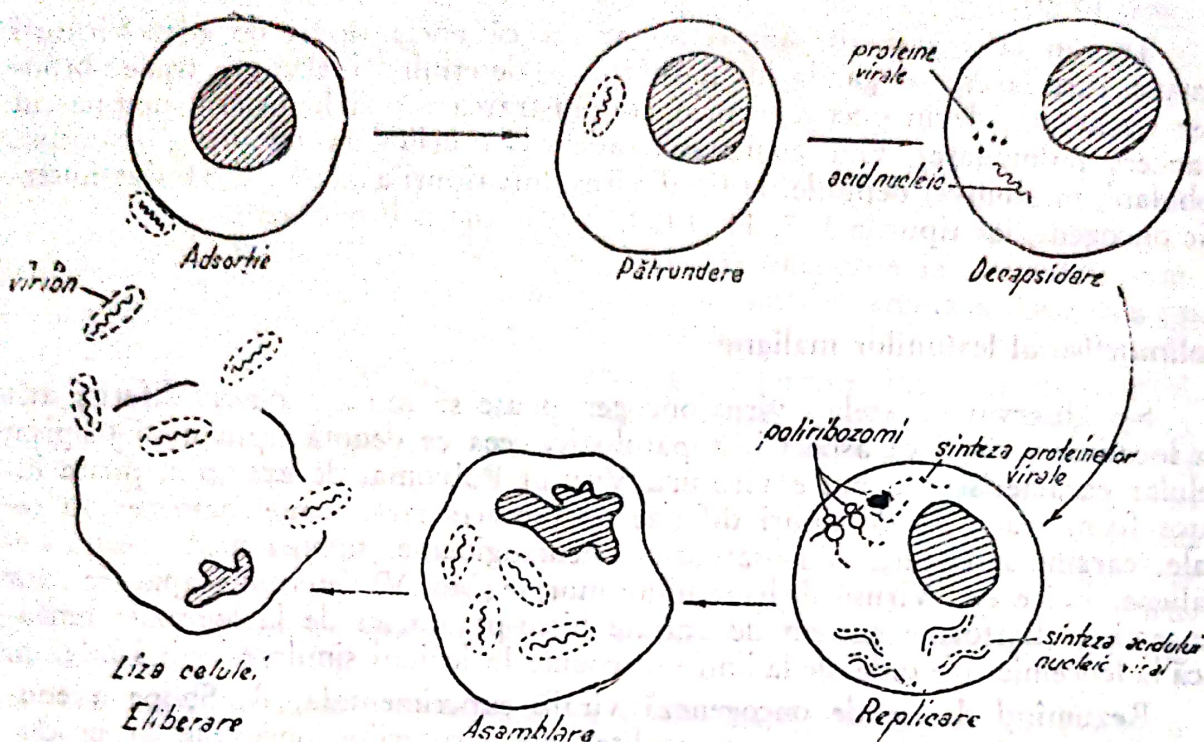


Fig. 10.10. — Schema infecției virale productive și litice. Virusul se adsoarbe pe suprafața celulei, intră apoi în citoplasma celulei (penetrare), se eliberează acidul nucleic viral (de-capsidare) care se multiplică (replicare) și concomitent determină întregul aparat celular să-i sintetizeze proteinele specifice virale. Are loc apoi asamblarea generațiilor noi virale din acidul nucleic și proteinele specifice. Celula este distrusă (lizată), eliberându-se virusurile, care sînt capabile să infecteze celulele vecine.

Replicarea virusurilor cuprinde mai multe etape:

- (a) adsorbția virusului, prin prinderea virionului de receptorii de pe suprafața membranei;
- (b) pătrunderea virusului în celulă prin viropexie (similar pinocitozei). În cazul virionilor cu anvelopă, pătrunderea se realizează prin fuziunea anvelopei cu membrana celulară și eliberarea în citoplasmă a nucleocapsidei;
- (c) decapsidarea — îndepărtarea proteinelor capsidei, probabil de către enzimele celulei, astfel că se eliberează acidul nucleic. Odată eliberat genomul viral, se eliberează informația necesară atât pentru replicare, cât și pentru transcriere, servind ca un tipar pentru biosinteza propriilor constituenți. Această sinteză este realizată de celula gazdă.
- (d) transcrierea informației din acidul nucleic pe mRNA (ARN mesager);
- (e) traducerea informației de pe mRNA, în poliribozomi, în secvența aminoacizilor din proteinele virale;
- (f) sinteza acidului nucleic viral care are loc aproape concomitent cu cea a proteinelor virale;
- (g) asamblarea virionului din acidul nucleic și proteine care se aranjează conform simetriei caracteristice;
- (h) eliberarea virusului, însoțit de liza celulei.

Infecția productivă poate să aibă loc și în cazul virusurilor oncogene, dar în cazul malignității infecția virală apare de obicei sub altă formă, neproductivă. Forma canceroasă a infecției virale se face prin persistența virusului în celulă pe toată perioada vieții acestei celule și prin menținerea lui și în celulele fiice. Are loc astfel o sincronizare între virus și celulă, sincronizare

determinată de fixarea materialului genetic viral (acidul nucleic) pe materialul genetic al celulei (ADN celular din cromozomi) (fig. 10.11). În acest mod, infecția virală, deși prezentă, este mascată; ea nu poate fi evidențiată prin

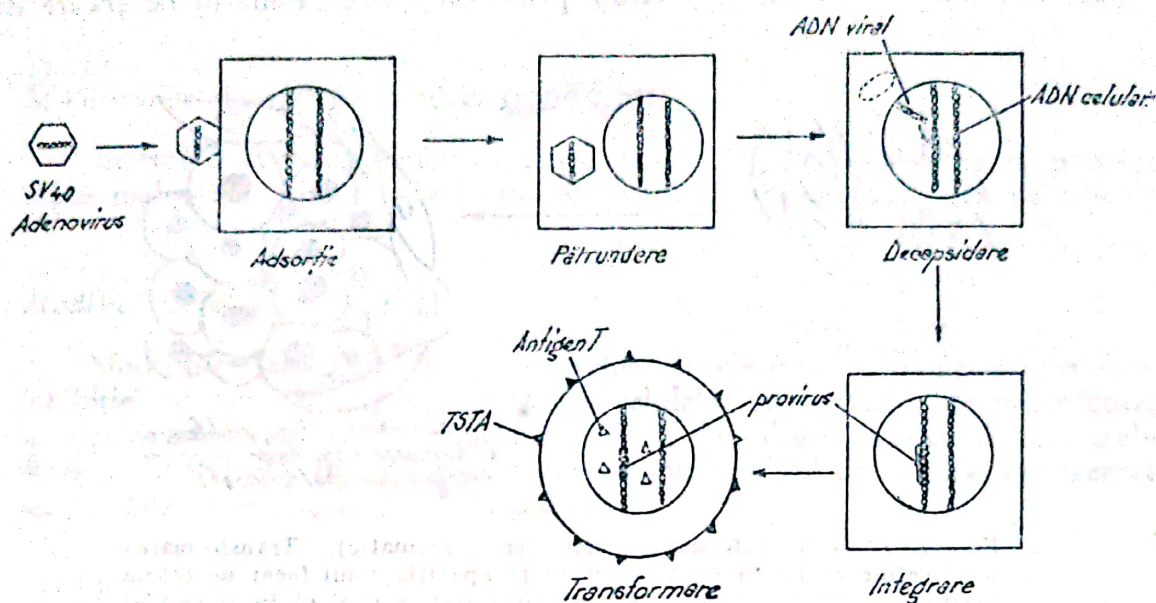


Fig. 10.11. — Schema infecției cu virusuri oncogene cu ADN, care induce transformarea celulelor. După adsorbție, penetrare și decapsidarea virusurilor, acidul nucleic viral pătrunde în nucleul celulei și este integrat în genomul celulei sub formă de provirus. O dată cu integrarea genomului viral apar în celulele transformate antigene noi: antigenele T (tumoraie) și TSTA (antigen de transplantare specifică tumorală). Antigenele sînt specifice pentru tipul de virus oncogen și sînt aceleași indiferent de tipul de celulă.

metodele curente de virusologie, deoarece nefiind productivă, nu se pot evidenția particule virale în interiorul celulei. De asemenea, filtratele aceluare pot să nu conțină particule virale și în consecință, prin injectare la animalele de experiență nu vor induce cancer.

Aceste particularități ale modului în care are loc și se menține infecția cu virusuri oncogene, explică datele discordante, uneori paradoxale, ale infecției experimentale la animale. Multe date privind mecanismul malignizării celulelor au fost furnizate de cercetările *in vitro* pe culturi de celule.

Stewart și Eddy (1958, 1972) au observat că infecția cu virusuri oncogene (în special cele cu ADN) poate să aibă două forme:

- prin infectarea celulelor *permissive*, adică a celulelor care permit multiplicarea virusului, are loc o infecție productivă; virusul se multiplică, iau naștere descendenții și are loc liza celulei;
- prin infectarea celulelor *nepermissive*, virusul nu se multiplică, dispare, nu mai poate fi evidențiat prin microscopia electronică, dar unele celule se transformă.

10.4.1.

Transformarea celulelor

Transformarea celulelor este modelul *in vitro* al malignității, pe care se bazează aproape toate lucrările cu virusurile oncogene. Ea furnizează baza pentru compararea fiziologiei celulelor tumorale cu cea a celulelor normale

și servește la studierea cantitativă a multor virusuri tumorale. Transformarea celulelor se manifestă prin apariția unor mici focare de celule care se divid, asemănător unor microtumori (fig. 10.12, 10.13). Fiecare focar de transformare este dat de infecția unei celule printr-un virus. Numărul de focare de

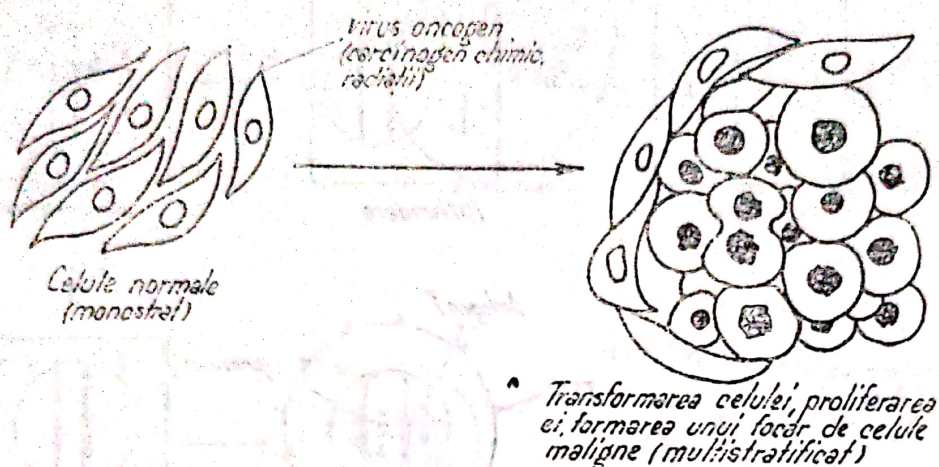


Fig. 10.12. — Transformarea celulelor (schematic). Transformarea unei celule realizată de virus duce la apariția unui focar de celule maligne (colonie), generat de multiplicarea necontrolată a celulei transformate. Colonia este formată din celule dispuse una peste alta, în straturi multiple, datorită pierderii inhibiției de contact.

transformare apărute în cultura celulară reprezintă deci *titrul oncogen* al virusului studiat. Celulele normale folosite în studiile de transformare sînt de două tipuri: (a) celulele luate de la embrion (găină, rozătoare etc.) și (b) linii permanente de celule clonate de mamifere (aceste celule nu sînt însă cu totul normale). Celulele normale, primare, utilizate în testările de transformare, cresc aderente de un suport solid (șiclă sau plastic) și sînt denumite în general „fibroblaste”, deși ele pot fi reprezentate de tipuri de celule variate



Fig. 10.13. — Focare de celule transformate induse prin infectarea cu virusul sarcomului aviar a culturilor de celule embrionare de găină (A), rață (B), prepeliță (C) și șobolan (D). (Allaner și Temin, 1970).

(Luria, 1979). În afara capacității de a se multiplica, celulele transformate prezintă caractere morfologice, biologice, biochimice și genetice diferite de celelalte celule din cultură. Modificările apărute depind atât de virusul oncogen care le-a transformat, cât și de tipul celulelor din cultură.

10.4.1.1.

Modificările suferite de celulele transformate

Încercînd să sistematizăm diversele modificări survenite în urma transformării maligne a celulelor, realizată de virusurile oncogene, putem deosebi:

10.4.1.1.1.

Modificări biologice

Modificări biologice ale caracterelor de creștere a celulelor: pierderea inhibiției de contact, creșterea densității celulelor cu formarea de microfocare, scăderea fixării (ancorării) de pereții vasului de cultură, reducerea necesarului de materii nutritive (în special ale serului), din lichidul de cultură, oncogenitatea celulelor prin injectarea lor la animale.

10.4.1.1.2.

Modificări morfologice

Modificări morfologice: celulele devin mai rotunde, prezintă mici proeminente la suprafață, își pierd fibrele de acțiune etc.

10.4.1.1.3.

Modificări biochimice

Modificări biochimice: celulele transformate prezintă o creștere a activității glicolitice, proteazice, a sintezei de hialuronat, o scădere a concentrației de AMP și GMP ciclic, o modificare a compoziției glicoproteinelor, apar antigene fetale etc.

10.4.1.1.4.

Modificări genetice

Modificări genetice: caracterizate prin alterări ale cariotipului, aneuploidie, apariția de cromozomi markeri, translocatii etc.

10.4.1.1.5.

Modificări imunologice

Modificări imunologice: apariția unor antigene noi: unele specifice virale — antigene ale capsidei virusului, altele induse de prezența virusului, dar care nu fac parte din structura virusului; antigenul T din nucleu, antigene TSTA (antigene de suprafață specifice tumorale) (tabelul 10.VI).

Poate că cea mai importantă din modificările determinate de transformarea celulelor este *imortalitatea*. Culturile primare sau secundare au o durată

MODIFICĂRILE SUPERITE DE CELULELE TRANSFORMATE (LURIA, 1979)

- (1) *Modificări morfologice și de comportament:*
 - devin mai rotunde, își pierd aderența la substrat;
 - orientarea lor mutuală este la întâmplare, își pierd inhibiția de contact la mișcare;
 - cresc una peste alta;
 - cresc în suspensie, își pierd dependența de ancoraj;
 - cresc până la densități mari, indefinite, mai curînd se omoară decît să-și oprească creșterea;
 - au necesități scăzute de ser;
 - devin invazive.
- (2) *Alterări de suprafață:*
 - crește acidul hialuronic;
 - scade acidul sialic legat de proteine;
 - scade conținutul de ganglioziide al lipidelor;
 - dispar proteinele de suprafață cu greutatea de 250 000 daltoni;
 - crește transportul glucidelor;
 - sint aglutinate mai ușor de lectinele din plante;
 - crește mobilitatea proteinelor de suprafață, deși fluiditatea lipidelor din membrană nu se modifică;
 - dispar microfilamentele de fibrină, dar rămîne actina difuză;
 - dispar filamentele similare miozinei;
 - se degradează (dezagregă) microtubii;
 - se evidențiază antigenele și
 - apar antigenele de respingere a transplantului virus-spezifice.
- (3) *Modificări biochimice interne:*
 - eliberează proteaze;
 - transcrierea genelor fetale.

de viață bine definită. De exemplu, culturile de celule umane mor după aproximativ 50 de generații de la stabilirea lor (Hayflick și Moorhead, 1961). Spre deosebire de acestea, culturile de celule transformate devin nemuritoare, ele vor crește indefinit, atîta timp cît experimentatorul le va îmbroșă mediul, le va ține în diviziune și nu le va lăsa să se omoare una pe cealaltă prin aglomerarea celulelor și prin exhaustarea mediului.

Modificările celulare apărute prin fenomenul de transformare sînt în general aceleași, indiferent de agentul de transformare: virus, carcinogeni chimici sau radiații ionizante. Aceste modificări reproduc *in vitro* modificările observate la celulele neoplazice dezvoltate *in vivo*.

Prin studierea proceselor de transformare a celulelor prin virusuri oncogene au început să se elucideze mecanismele specifice prin care are loc această transformare neoplazică. Cercetările efectuate pînă în prezent demonstrează că pentru ca transformarea și tumorigeneza să aibă loc este necesară persistența genomului viral în celulă.

10.4.1.2.

Persistența genomului viral în celulele transformate

Deoarece, așa cu am arătat anterior, în celulele transformate în majoritatea cazurilor nu se pot pune în evidență particule virale, s-a ivit întrebarea: ce se întîmplă cu virusul infectant?

Unii autori, au susținut că virusul oncogen atacă celula, o malignizează și ulterior, deși virusul este pierdut de celula transformată, celula își menține

starea de transformare. Această teorie, prin care virusul „lovește și fuge” („hit and run”) este contrazisă de unele date experimentale. S-a văzut că, dacă celulele transformate de un virus oncogen (în special virusuri ADN) se cultivă împreună cu celulele permissive pentru acest virus (cocultivare), cele două tipuri de celule fuzionează, iar în supernatant apare virusul oncogen inițial (fig. 10.14).

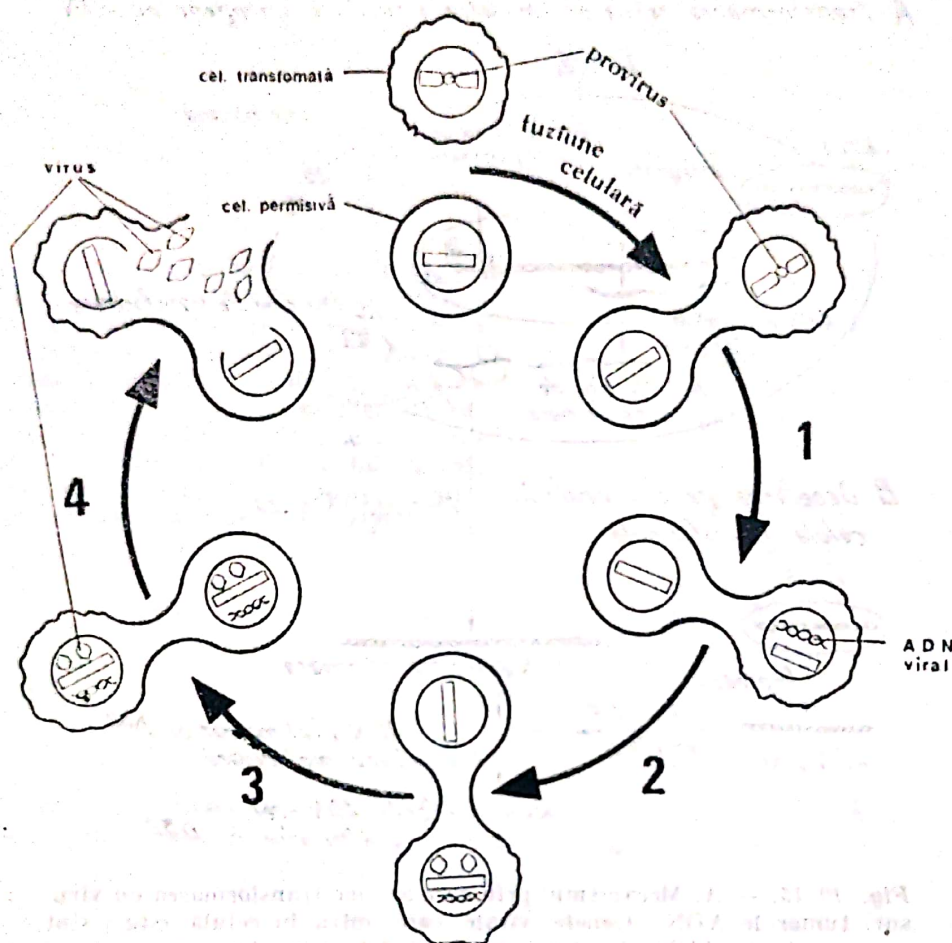


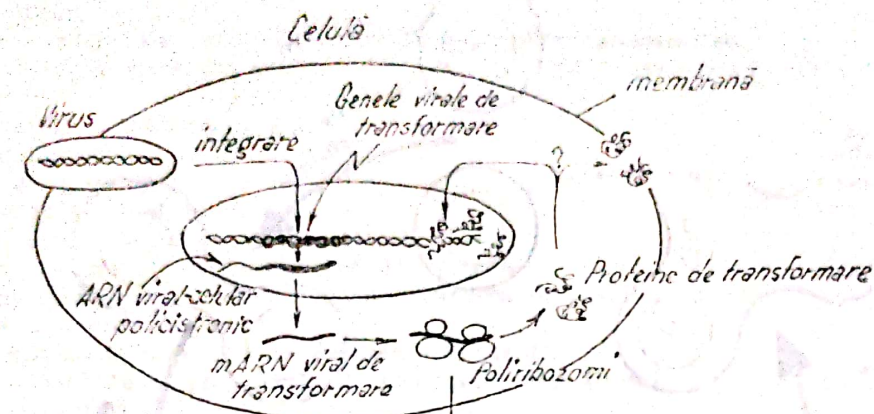
Fig. 10.14. — Eliberarea virusului infecțios din celulele transformate, prin:
1 — fuziunea lor cu celule permissive normale. După fuziunea celulelor are loc eliberarea genomului viral integrat sub formă de provirus. 2 — replicarea virusului în nucleul celulei transformate; 3 — virusul este transferat în celula normală și se replică din nou; 4 — eliberarea virusului scos din integrare și liza celor 2 celule (Jawetz și colab., 1978, modificat).

Deoarece celulele permissive nu erau infectate, sursa virusului nu putea fi decât celula transformată. Deci, în procesul de transformare, genomul viral se menține în celulă sub o formă care nu poate fi decelată direct, ci sub o formă mascată. Stewart și Eddy au emis ipoteza, confirmată ulterior la toate virusurile oncogene cu ADN, că virusul se integrează, se fixează în cromozomii celulei gazdă și sub această formă „mascată”, denumită „provirus”, va trece, o dată cu diviziunea celulei, în celulele fiice, menținând transformarea (fig. 10.11 și 10.14). Se poate astfel explica de ce virusul nu poate fi izolat din tumorile pe care le induce (vezi oncogeneza experimentală).

O dată dezvoltarea tehnologiei de cercetare, a biologiei moleculare, s-a văzut că se pot decela urme ale virusului oncogen, urme la fel de impor-

tante ca amprente în criminologie. S-au realizat copii sintetice sau marcate cu izotopi radioactivi ale acidului nucleic viral și s-a observat că aceste copii hibridizează cu ADN izolat din nucleul celulelor transformate de același virus (fig. 10.15). Se știe că hibridizarea dintre două molecule de ADN

A. Transformarea celulelor de către virusurile oncogene cu ADN



B. Decelarea genelor virale în celula transformată

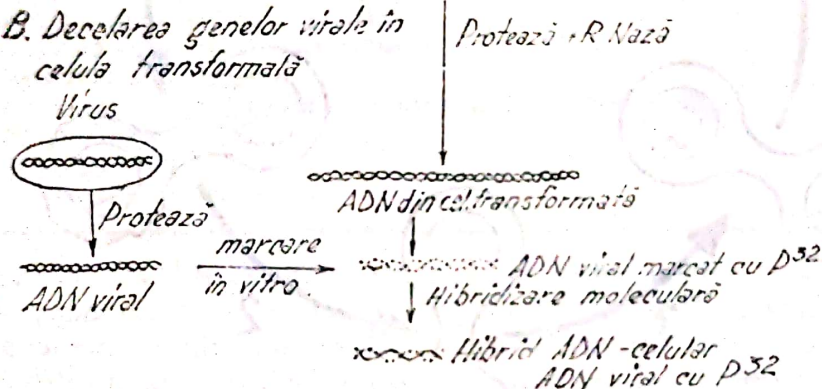


Fig. 10.15. — A. Mecanismul prin care are loc transformarea cu virusuri tumorale ADN. Genele virale care intră în celulă (stg.) sînt incorporate în ADN al celulei gazdă și determină transcrierea unui ARN viral celular policistronic. Din acest ARN este prelucrat un mRNA viral de transformare, care este transportat în citoplasmă pe ribozomi și este tradus aici în proteinele de transformare. Proteinele de transformare se leagă ipotetic fie de membrană, fie de ADN celular, în acest ultim caz alterînd mecanismele de reglare. B. Decelarea genelor virale în celula transformată. ADN al virusului este extras prin tratare cu protează și apoi cu fenol. ADN purificat este marcat *in vitro* cu fosfor radioactiv (P^{32}). Concomitent este extras ADN din celula transformată. Apariția unui hibrid ADN celular — P^{32} — ADN viral indică prezența în celule transformată a secvenței din ADN viral (Green, 1978).

poate să aibă loc numai dacă cele două molecule sînt identice. S-a dovedit astfel că cromozomii celulei transformate conțin materialul genetic al virusului. Odată fixat pe cromozomi, celula nu mai poate diferenția propriul său material genetic de cel străin, pe care îl poartă și îl propagă la celulele descendente (fig. 10.15).

Această coexistență sincronă nu este lipsită de urmări pentru celula gazdă: noul material genetic determină diviziunea celulei care-l poartă, chiar

Pentru o mai bună înțelegere a evenimentelor moleculare, amintim foarte succint și simplificat modul în care se transmite patrimoniul ereditar al unei celule. Întreaga informație genetică a tuturor caracterelor morfo-funcționale ale celulelor este cuprinsă în acidul dezoxiribonucleic (ADN) din cromozomii aflați în nucleul celulei. Molecula de ADN este formată din două lanțuri (sau catene) complementare de polinucleotide care sînt dublu spiralate (fig. 10.16). În procesul diviziunii celulare cele două lanțuri se desfac și fiecare catenă va reprezenta tiparul după care se va sintetiza un nou lanț complementar de polinucleotide.

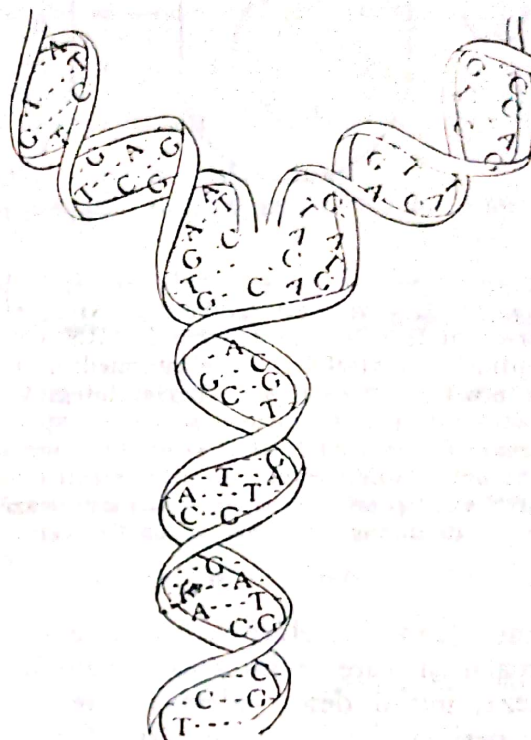


Fig. 10.16. — Structura și replicarea semi-conservativă a ADN conform modelului Watson și Crick. Are loc scindarea longitudinală a moleculei dublu helicoidale de ADN și cele 2 brațe (catene) funcționează ca un tipar pe care se sintetizează câte o catenă complementară. Liniile punctate reprezintă legăturile de hidrogen dintre bazele pereche A-T (adenină-timină) și G-C (guanină-citozină). Iau naștere astfel 2 copii identice ale modelului original.

În cazul celulelor bine diferențiate, care în mod normal nu se divid. Se pare că virusul aduce cu el informația necesară declanșării sintezei acizilor nucleici, sinteză care premerge diviziunii celulare.

Deci, în locul unei singure spirale, apar două spirale de ADN, identice cu cea inițială. Molecula de ADN este foarte mare; ea conține informația necesară pentru biosinteza unui mare număr de proteine, enzime, componente structurale etc. Informația pentru o proteină, de exemplu, înscrisă într-o anumită zonă a ADN, denumită *genă*, este transcrisă pe un acid ribonucleic (ARN) format dintr-un singur lanț de polinucleotide, cu ajutorul unei enzime (ARN-polimeraza dependentă de ADN). Lanțul de acid ribonucleic va fi complementar ADN pe care s-a sintetizat și care a constituit tiparul. Acest ARN va transmite mai departe informația; din acest motiv a fost denumit *ARN-mesager* (mARN). El iese din nucleu în citoplasmă și se etalează pe niște corpusculi citoplasmatici numiți ribozomi, în care are loc sinteza proteinei. Aici, informația purtată de ARN mesager este tradusă în secvența aminoacizilor care formează molecula de proteină.

Pentru a fi ereditară, transmisibilă la celulele descendente, informația trebuie să fie conținută de ADN al cromozomilor. În cazul virusurilor oncogene cu ADN, moștenirea informației genetice a virusului de către celulele fiice se realizează prin includerea în cromozomii celulei gazdă a ADN viral. În cazul virusurilor cu ARN însă acest lucru nu este posibil, deoarece ARN al virusului nu se poate fixa pe ADN al celulei. Deci, nu se cunoștea cum se transmite genetic din generație în generație informația oncogenă de transformare a celulelor.

Pentru a explica modul prin care se realizează această transmitere ereditară, H. Temin emite în 1964 ipoteza apariției în cursul ciclului viral a

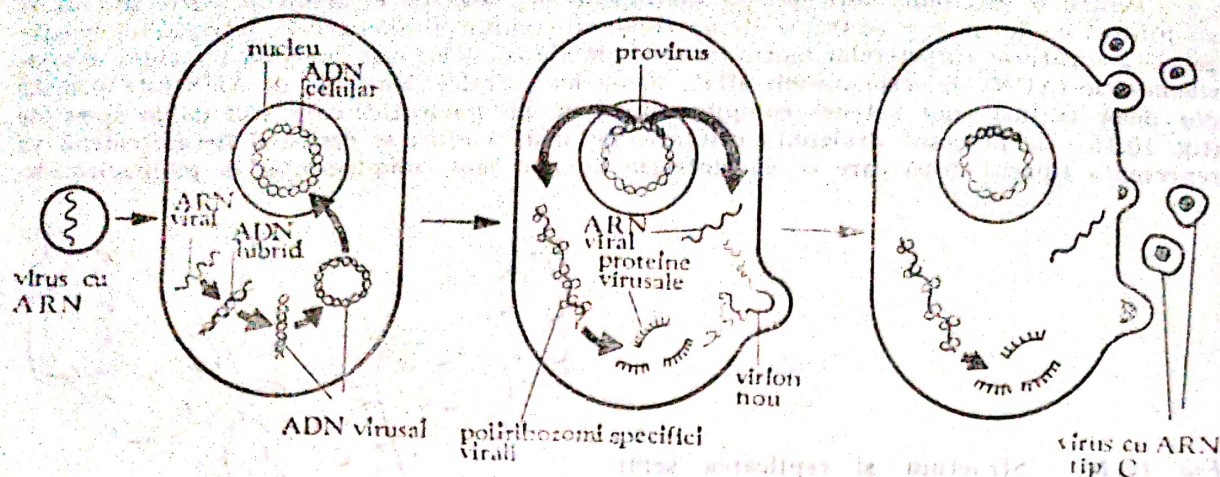


Fig. 10.17. — Infecția celulelor cu virusuri oncogene ARN. După prinderea și pătrunderea virusului în celulă se eliberează ARN viral. Transcriptaza inversă determină sinteza unei copii ADN a ARN viral prin intermediul unui ADN hibrid. ADN astfel sintetizat se închide în formă circulară și este ulterior integrat în ADN al celei gazdă sub formă de provirus. Odată integrat, provirusul se poate exprima prin procesul normal de transcriere: se sintetizează din nou ARN viral și un ARN-mesager, care determină sinteza proteinelor virale în ribozomi. Poliribozomii specifici virali sînt formați din ARN mesager și ribozomii celulei. ARN viral și proteinele virale se asamblează apoi în virioni noi, care ies din celulă printr-un proces de înmugurire, care nu dă liza celei (Baltimore, 1976 și Jawetz și colab., 1978, modificat).

unui „provirus ADN”, care este sintetizat după tiparul ARN al virusului oncogen și care se integrează apoi în genomul celei gazdă (fig. 10.17). Ipoteza, inițial desconsiderată, este confirmată în 1970, surprinzător, prin descoperirea simultană de către Temin și Mizutani și de către Baltimore a unei enzime, prezentă în virusurile oncogene cu ARN, pe care o denumesc *ADN-polimeraza dependentă de ARN* (pentru această descoperire, în 1975 au fost laureați cu premiul Nobel).

Această enzimă contrazicea una din dogmele fundamentale ale biologiei moleculare și anume că informația ereditară este transmisă de la ADN la ARN și apoi la proteină. Din acest motiv, un corespondent anonim, glumeț, al celebrei reviste *Nature* din Londra, a poreclit-o „reverse transcriptaze” — transcriptaza inversă, termen care ulterior s-a generalizat.

S-au adus numeroase dovezi experimentale că într-adevăr informația virală este integrată în genomul celei gazdă, în special prin metode de hibridizare între ARN viral marcat radioactiv și ADN al celei. Dovada cea mai certă a existenței provirusului a fost adusă de Hill și Hillova (Institutul Gustave Roussy, Franța), care au izolat din celule transformate cu virus Rous un ADN (complementar ARN viral) care, injectat în culturi de fibroblaste de găină, determină atât transformarea celulelor, cât și eliberarea de virus infecțios, identic cu tulpina de virus inițială.

S-a constatat că toate virusurile ARN care sînt oncogene conțin această enzimă, revers-transcriptaza; de aceea au fost clasificate sub denumirea de *retrovirusuri* sau *ribodezoxivirusuri* (tabelul 10.V)*.

* Există și retrovirusuri neoncogene: subfamiliile Spumaviridae (virusuri formatoare de sin-
ciții) și Lentiviridae (virusuri „lente”: Visna și maedi ale oilor și virusurile „lente” umane).

Schematic, etapele replicării (adică reproducerii de noi generații de virioni) sînt următoarele (fig. 10.17):

- Adsorbția pe membrana celulei și pătrunderea virionilor;
- ARN viral este transcris sub formă de ADN printr-o reacție catalizată de enzima conținută în virion — revers-transcriptaza. La două ore după infecție, apare un hibrid ARN-ADN, apoi un ADN.
- ADN este transportat în nucleu și integrat în genomul celulei, constituind provirusul care este ulterior considerat ca un element propriu al celulei.
- Pentru sinteza unui nou virus se parcurge calea obișnuită a celulei:
 - ARN viral este sintetizat de ARN-polimeraza ADN-dependentă. Se formează un ARN mare, cunoscut sub numele de ARN 70 S (de la constanta de sedimentare), care trece în citoplasma celulei;
 - Proteinele capsidei urmează calea mARN — poliribozomi — proteine.
- Ansamblarea virusului în citoplasma celulară și eliberarea lui au loc printr-un proces de înmugurire, fără să se distrugă celula.

În funcție de tulpina de virus ARN și de tipul de celulă infectată există mai multe posibilități, care, cum afirmă Deinhardt (1974), pot fi schematizate astfel:

- | | | |
|-----------------------------|--|---------------------------------|
| | (a) are loc multiplicarea virusului (celule permissive) | (infecție productivă) |
| (A) Celula se transformă | (b) nu are loc multiplicarea virusului (celule nepermissive) | (infecție latentă sau abortivă) |
| | (c) cu multiplicarea virusului (celule permissive) | (infecție productivă) |
| (B) Celula nu se transformă | (d) fără multiplicarea virusului (celule nepermissive) | (infecție latentă) |

În toate cazurile, indiferent dacă celula se transformă sau nu, ori dacă infecția este productivă sau latentă, genomul viral este integrat în genomul celular și este transmis celulelor fiice.

— În infecțiile *neproductive* nu se ajunge în etapa a 5-a, deoarece este integrată numai o parte din genomul viral. Se pot produce însă unele proteine din structura virusului, ca de exemplu transcriptaza inversă.

— În infecțiile *productive* se realizează și etapa a 5-a. Apare virusul matur, care este format din nucleocapsidă și învelișul extern (anvelopă), format în majoritate din membrana celulei (fig. 10.1, 10.9, 10.17).

În prezent se fac cercetări ample asupra zonelor din cromozomi în care are loc fixarea genomului viral. Se cercetează dacă există sau nu tropisme specifice ale virusurilor oncogene pentru anumiți cromozomi și dacă integrarea genomului viral induce sau nu modificări ale secvenței nucleotidelor din zona integrării.*

Între virusurile oncogene cu ADN și cele cu ARN există deosebiri (tabelul 10.VII), dar acestea au o trăsătură comună: *ambele transformă celulele prin integrarea totală sau parțială a genomului lor în genomul celulei gazdă.*

Din cele expuse anterior se constată că virusurile oncogene cu ARN pot fi decelate prin mai multe metode:

— a) prezența particulelor virale în celulele producătoare — prin microscopie electronică;

* Vezi addendum.

TABELUL 10.VII

CARACTERELE COMPARATIVE ALE VIRUSURILOR TUMORALE ADN ȘI ARN
LEVY, 1977

VIRUSURI ADN	VIRUSURI ARN
1. Infecția producătoare de virus duce la liza celulei	1. Infecția producătoare de virus duce la transformare, fără liza celulei
2. Infecția abortivă duce la transformarea celulelor, fără producere de virus, sau cu o producere mică	2. Infecția abortivă duce la transformarea celulelor și este lipsită de producție de virusuri
3. Transformarea este inefficientă (pentru ca o celulă să se transforme sînt necesare 1–10 milioane de particule virale)	3. Transformarea este relativ eficientă (sînt necesare 100–1 000 particule virale pentru ca o celulă să se transforme)
4. Unele virusuri induc sinteza de ADN și diviziunea celulelor	4. Toate virusurile induc sinteza de ADN și diviziunea celulelor

— b) prezența ARN viral 70S — prin metode biochimice;

— c) prezența enzimei transcriptaza inversă — tot prin metode biochimice;

— d) prezența genomului viral în cromozomii celulei gazdă sub formă de provirus (în celulele neproductive) prin procedee de hibridizare a acizilor nucleici (fig. 10.15).

— e) prezența unor antigene virale, străine celulelor normale — prin procedee imunologice. Antigenele pot fi:

· induse de virus, ca antigenele TSTA;

· proteine proprii ale virusului. Între acestea distingem 3 categorii distincte imunologic:

— antigene specifice de tip — specifice pentru un tip de virus al unei specii animale;

— antigene specifice de specie — specifice pentru toate tipurile de virus ale unei specii animale;

— antigene specifice de grup sau interspecii specifice (antigene gs) — ce reacționează încrucișat cu virusuri de tip C de la alte specii animale (vezi cap. Virusuri oncogene umane).

Odată în posesia acestor arme de investigare, cercetătorii au pornit cu mai mult optimism la atacarea virusurilor oncogene pe toate fronturile: prin microscopie electronică, culturi de celule, metode biochimice, imunologice și epidemiologice.

10.4.1.3.

Exprimarea genomului viral

Am arătat că odată integrat în genomul celulei, genomul virusului este considerat de celulă ca un element propriu și, astfel, transcrierea și exprimarea lui se află sub controlul genelor celulare. S-a văzut, în cazul infecțiilor productive, că pentru a se forma noile generații este necesară exprimarea întregului genom viral. În cazul transformării maligne însă nu este necesară exprimarea întregului genom. La virusurile oncogene cu ARN s-a observat că exprimarea unei singure gene din virus este suficientă pentru apariția malignizării. Această genă a fost denumită inițial la păsări gena „src”, iar la mamifere gena „onc” (vezi oncogeneza virală).

Și în cazul virusurilor oncogene cu ADN există dovezi că pentru transformarea celulelor este necesar și suficient numai un anumit fragment, care reprezintă, de fapt, 6—8% din genomul viral. În cazul virusului SV40 se pare că acest fragment reprezintă gena A responsabilă de sinteza antigenului T („tumour antigen”). Antigenul T pare că acționează ca inductor al sintezei ADN în celulă, forțând celula să intre din faza G₁ în faza S (vezi secțiunea 10.6.3.2. din oncogeneza virală).

Caracterele particulare specifice ale infecției cu virusuri oncogene determină existența particularităților descrise deja ale oncogenezei experimentale (tabelul 10.VII).

10.4.2.

Transmiterea naturală a virusurilor oncogene

În natură transmiterea virusurilor oncogene se poate face prin două modalități: transmiterea orizontală și transmiterea verticală.

10.4.2.1.

Transmiterea orizontală

Acest mod de transmitere este cel bine cunoscut din epidemiile virale: rujeolă, parotidită epidemică etc. A fost denumit orizontal, deoarece infecția se transmite de la un animal la altul, determinând adevărate epidemii într-o colectivitate. Transmiterea orizontală a fost demonstrată numai la câteva virusuri oncogene, care dau: leucoza enzootică, leucemia pisicilor și cele două forme de leucemie a găinilor; leucoza limfatică sau „boala cu ficat mare”, dată de un virus ARN și neurolimfomatoză sau boala Marek, de un virus ADN (herpesvirus).

10.4.2.2.

Transmiterea verticală

Transmiterea verticală este mult mai frecventă. Infecția se transmite de la părinți la descendenți. Virusul oncogen există în celulele germinale sub formă de provirus și este transmis astfel într-un număr indefinit de generații, fără nici un impediment pentru animal. În anumite condiții însă (iradiere, carcinogeni chimici, scăderea imunității animalelor), apare malignitatea. În cazul virusului cancerului mamar murin infecția se poate transmite de la mamă la sugă prin intermediul laptelui, care conține particule virale.

În concluzie, din datele expuse rezultă că simplul fapt că într-o anumită neoplazie nu se evidențiază corpusculi virali sau antigene structurale virale nu este suficient pentru a exclude posibilitatea etiologiei virale a malignității. Absența corpusculilor virali nu exclude existența și exprimarea unor fragmente din genomul viral, responsabile, de fapt, de malignizare. Și reversul acestei afirmații este valabil. Decelarea unor particule virale sau a antigenelor specifice virusului nu indică neapărat originea virotică a tumorii. Nu este exclusă posibilitatea unui virus pasager, virus care se dezvoltă într-o celulă malignizată în prealabil. Problema se complică și mai mult prin existența virusurilor endogene.

Virusurile endogene

Celulele normale, provenite de la foarte multe specii animale, conțin în cromozomii lor genomul unuia sau chiar al mai multor virusuri, sub o formă latentă. Aceste virusuri, cu ARN de tipul oncornavirusurilor, au fost denumite *virusuri endogene* sau *endovirusuri*. Ele se transmit vertical și pot fi evidențiate în celulele germinale.

Genomul virusului endogen poate fi exprimat sau nu. Se află sub controlul reglator al celulei, al cărui rezultat, de obicei, este represia parțială sau completă a genelor virusului. Același genom endogen poate fi complet reprimat într-o celulă și exprimat în altă celulă a aceluiași animal. Unele specii de animale au mai multe virusuri endogene.

Exrem de interesant este faptul că aceste virusuri pot fi de 3 tipuri: se pot replica numai în celulele altor specii de animale și nu pot infecta celulele speciei din care au fost izolate (*virus xenotropic*), se pot replica preferențial sau exclusiv în celulele speciei de origine (*virus ecotropic*) și se pot replica atât în celulele speciei de origine, cât și în cele ale altor specii (*virus amfotropic* sau *politropic*). Genomul celulelor de șoarece AKR conține cel puțin 4 tipuri de virusuri endogene (MuLV): două ecotropice, unul xenotropic și unul amfotropic. Aceste virusuri endogene sînt adesea denumite „virusuri leucemice”, prin analogie cu membrii clasici ai acestui grup de virusuri, deși majoritatea lor nu transformă celulele *in vitro* și nu sînt oncogeni *in vivo*. Exprimarea genomului, apariția și replicarea virusului pot fi obținute prin tratarea celulelor cu: radiații (ultraviolete sau Röntgen), agenți mutageni (5'-bromo, 5'-iododezoxiuridină, sau ciclohexamină etc.), sau sub acțiunea unor conflicte imunologice, hormoni, vîrstă.

Todaro afirmă că virusurile endogene au următoarele caractere:

- (a) genomul lor este prezent în ADN al tuturor celulelor somatice și germinale și se transmite genetic la descendenți (Todaro și colab., 1976; Baltimore, 1974, 1976);
- (b) sînt prezente copii foarte înrudite, dar nu identice;
- (c) exprimarea virusului (ARN, antigene virale, polimeraza inversă, particule virale complete) se află sub controlul celular, avînd loc probabil numai în perioada de dezvoltare și maturare a celulelor;
- (d) celulele unei specii sînt în general rezistente la infectarea cu propriul lor virus endogen;
- (e) liniile clonale ale unor specii sînt capabile să elibereze virus complet, de multe ori însă genomul virusului endogen este defectiv.

Suprainfecția cu un virus exogen a celulelor care posedă un virus endogen poate duce la recombinații fenotipice între virusul endogen și exogen, recombinații cu potențial oncogen (fig. 10.18).

Cercetările asupra leucemiei șoarecilor indusă prin iradiere (Gross și Kaplan) au arătat că leucemia este provocată de activarea unui endovirus latent (Rad-MuLV). W.P. Rowe a demonstrat că la aceste animale virusurile endogene leucemice constituie o parte a genomului celulei. Genomul virusului este inserat pe cromozomii celulelor pe cel puțin 3 gene nelegate între ele. Prin metode de încrucișare între animale s-a văzut că se supun legilor de segregare mendeliene.

Din toate aceste date rezultă că simpla prezență a unui virus, sau a genomului viral într-o celulă tumorală nu este suficientă pentru a se incrimina vi-

rusul ca agent etiologic al tumorii, deoarece celulele majorității speciilor animale conțin virusuri endogene inofensive. În cazul în care endovirusurile latente sînt de fapt cancerigene (de exemplu Rad-MuLV), trebuie ca o anumită parte

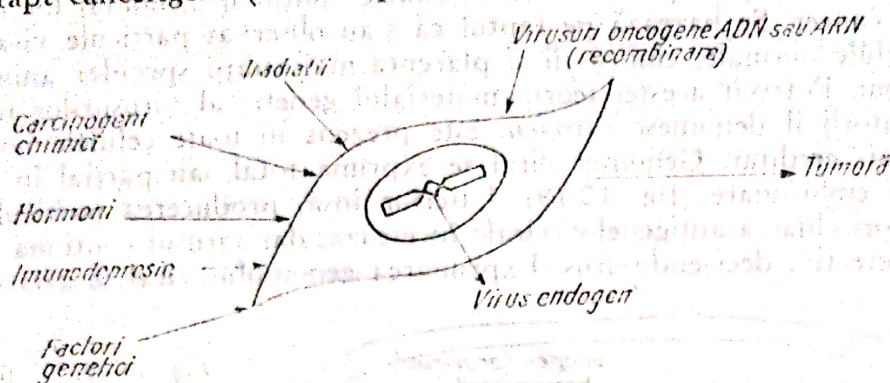


Fig. 10.18. — Schema rolului virusurilor endogene în apariția tumorilor. Transformarea se face în urma intervenției unor cofactori externi: radiații, substanțe carcinogene, hormoni, virusuri, în prezența unor factori genetici și a imunosupresiei.

din genomul lor, și anume cea care induce transformarea, să se exprime. Expri-marea genomului viral latent se poate realiza prin acțiunea unor cofactori ex-terni (radiații, citostatice) sau interni (hormoni, reacții imunologice) care acțio-nează ca factori de declanșare a bolii (fig. 10.18). Importanța unor cofactori în producerea unei boli nu este un fenomen singular, nu este apanajul oncogenezei virale. Reamintim experiența bine cunoscută a lui Pasteur, care a obținut „ho-lera găinilor” numai după introducerea picioarelor puilor de găină în apă rece. În ultimul timp li se atribuie un rol din ce în ce mai mare acestor cofactori. Printre ei se incriminează starea de susceptibilitate a individului la infecția vi-rală, probabil determinată genetic, care poate să constituie explicația faptului că unele virusuri oncogene sînt latente și inofensive (SV40 la maimuța Rhesus), sau determină doar inflamații trecătoare (adenovirusurile umane) la gazdele lor naturale, dar devin oncogene prin inocularea la alte specii.

Pentru a se atribui unui virus rolul de agent etiologic al unui cancer sau leucemii, în special umane, trebuie avute în vedere toate aspectele expuse an-terior. Din acest motiv, virusologii au devenit mult mai circumspecți în ulti-mul deceniu, pe măsură ce s-au acumulat noi date experimentale și mai ales după experiența lui McAllister și colab. Acești autori au izolat dintr-un rabdo-miosarcom uman un virus tip C denumit de ei RD-114. Ulterior s-a constatat că virusul izolat nu este de fapt decît un virus inofensiv endogen de pisică.

10.6.

Oncogeneza virală

Pentru a explica rolul virusurilor oncogene în apariția cancerului, au fost emise două teorii: teoria virogenului oncogen a lui Huebner și Todaro (1969) și teoria protovirusului a lui Temin (1971).

10.6.1.

Teoria virogenului oncogen

Această teorie presupune că toate celulele conțin în genomul lor informația pentru cancer. Se bazează pe faptul că s-au observat particule virale complete în celule normale, embrionii și placenta majorității speciilor animale, inclusiv la om. Potrivit acestei teorii, materialul genetic al virusurilor tumorale, pe care autorii îl denumesc *virogen*, este prezent în toate celulele normale și este transmis ereditar. Genomul viral se exprimă total sau parțial în decursul dezvoltării embrionare (fig. 10.19). Ulterior însă, producerea particulelor virale și uneori chiar a antigenelor virale încetează, dar virusul continuă să existe ca virus defectiv, deci endovirus. Exprimarea genomului viral se află sub con-

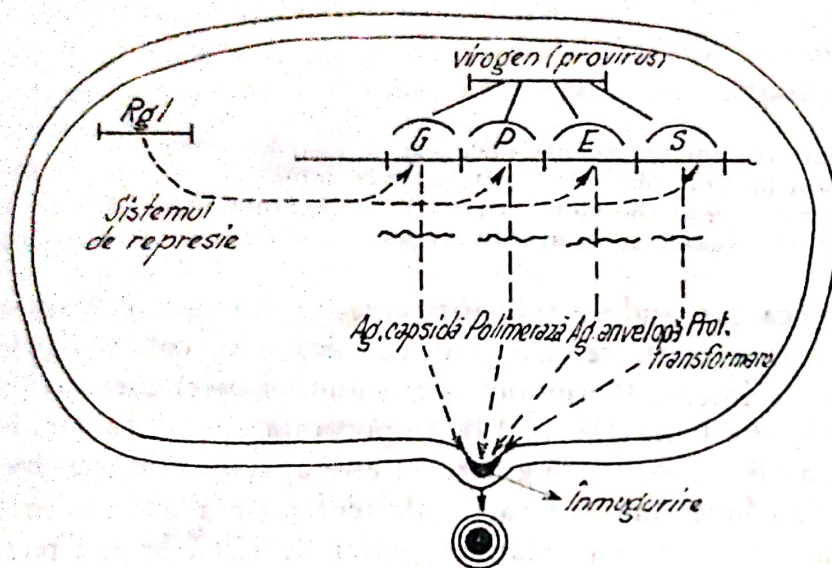


Fig. 10.19. — Ipoteza virogenului oncogen a lui Huebner și Todaro. Tumorile sînt induse de proteinele de transformare codificate de oncogenă (gena *onc* sau *src*), care face parte din structura virogenului (provirus). Exprimarea virusului tumoral complet sau numai a oncogenei este declanșată de genele reglatoare, care codifică sistemul de represie (represor).
G — gena *gag*; p — gena *pol*; E — gena *env*; S — gena *src* (sau *onc*); Rgl — gena reglatoare (Culliton, 1972, modificat).

trolul celulei prin genele ei reglatoare și în mod normal în viața adultă acesta este reprimat. Teoria explică producerea tumorilor prin faptul că radițiile, substanțele cancerigene etc. activează genomul viral și, concomitent, deprimă imunologic animalele, ducînd deci la exprimarea virusului, la transformarea celulelor și totodată la inhibarea respingerii imunologice a celulelor transformate. Părerăa acestor autori este deci că virogenul este oncogen.

Pentru oncogeneză însă nu este obligatorie exprimarea întregului genom viral. În ultimii ani s-a întocmit cartografierea genetică a oncovirusurilor pe baza studiilor efectuate cu mutante ale virusurilor: mutante ts (sensibile la temperatură) și mutante la td (defective pentru transformare, adică mutante care nu transformă celulele). Baltimore (1974), confirmat de alți autori (Duesberg, Stephenson, Hanafusa, Wang, Salden și alții), susține că ARN 70 S (greutate moleculară $6-7 \times 10^6$ daltoni), ce constituie genomul oncornavirusurilor are aproximativ 10 000 nucleotide, este diploid, fiind format din 2 subunități identice de ARN 30—40S, formate fiecare din 4 gene: *gag*, *pol*, *env* și *src* (la păsări) sau *onc* (la mamifere) (fig. 10.19) (tabelul XXII).



Gena *gag* („grup specific antigens” — prescurtat) — codifică informația necesară pentru sinteza proteinelor structurale ale capsidului viral. Aceste pro-

teine, notate cu p (p 30, p15, p12, p10, p16) au grade diferite de specificitate: unele sînt specifice de tip, altele de grup (gs) sau specifice interspecii.

Gena pol — codifică informația pentru sinteza transcriptazei inverse (ADN polimeraza dependentă de ARN).

Gena env — conține informația pentru proteinele anvelopei (de la *envelope*), adică a glicoproteinelor de la suprafața virionului (gp). Cea mai importantă gp 69/71 este specifică de tip și are rol în pătrunderea virusului în celulă.

Gena src (la păsări) sau *onc* (la mamifere) este cunoscută și sub denumirea de gena de transformare sau oncogena.

Produsul ei este un stimulator al proliferării și un factor de transformare al celulelor normale în celule tumorale. Unii autori susțin că există o genă separată, *luk*, răspunzătoare de apariția leucemiei, alții însă că aceasta este cuprinsă în gena *src*. De fapt, genomul virusului leucemiei aviare (ALV) este cu aproximativ 15% mai mic decît cel al virusului sarcomului aviar (ASV sau RSV) (vezi secțiunea 10.6.3.).

Pentru ca să se producă virionul, sînt necesare și suficiente 3 gene: gag, pol și env. Dacă una dintre aceste gene nu se exprimă, virusul este defectiv, adică nu are loc multiplicarea.

De exemplu tulpina Bryan H („high titer“ — cu titru mare) a virusului sarcomului Rous (BH-RSV) poate induce transformarea celulelor, dar nu poate să producă virus infecțios, datorită deleției (pierderii unei părți) suferită în gena *env*. Dacă celulele care conțin BH-RSV, celule neproductive de virus (NP — de la non producer) sînt infectate cu un virus „helper“ (ajutător) ca RAV (Rous associated virus), virus care în mod obișnuit nu determină transformarea celulelor infectate, celulele devin productive, eliberînd un virus infecțios care induce *in vitro* transformarea altor celule, iar *in vivo* sarcoame. Virusul produs este un amestec fenotipic posedînd genomul RSV (care îi dă capacitatea de transformare) și proteina RAV (ce îi permit intrarea în celulele care au receptori pentru această anvelopă virală). Acest amestec fenotipic se poate realiza și între oncornavirusuri și alte virusuri neînrudite, de exemplu VSV (virusul stomatitei veziculare), determinînd astfel posibilitatea infectării unei game extrem de variate de celule, altfel nepermissive pentru RSV.

Pentru apariția neoplaziei este necesară și suficientă exprimarea numai a genei *src* (*onc*).

Deleția genetică survine cu o frecvență mare la oncornavirusuri. La oncornavirusurile aviare sînt cunoscute trei tipuri de mutante defective: cel mai des întîlnite sînt cele în care lipsește gena *src*: mutantele td și virusurile leucemiei aviare (ALV), mutante cu deleția genei *env*: BH-RSV și o variantă a liniei Schmidt-Ruppin (SR-RSV-NY8), deleția genei *pol*, variante ale virusurilor cu deleția genei *env*: BH-RSVa și SR (RSV) NY8a. Recent s-a descris un virus al leucemiei aviare acute: virusul mielocitomatozei MC29, care este lipsit parțial de gena gag (p 15 și p 27). Deleția poate deci interesa întreaga genă sau numai o parte din ea.

Prin metode de hibridizare a acizilor nucleici Stehelin și colab. (1976) și Frankel și Fischinger (1977) au arătat că gena *src* (și respectiv *onc*) este prezentă și în ADN al celulelor normale. Ea este formată din aproximativ 1 600 de nucleotide. Mai mult, s-a văzut că există asemănări ale acestor secvențe de nucleotide ale genei *onc* și *src* între diferite specii animale, asemănări care sînt cu atît mai marcate, cu cît speciile sînt mai apropiate, mai înrudite.

Dacă aceste gene ale malignizării sau oncogene sînt componente normale ale celulelor, se pune întrebarea ce rol fiziologic au ele? Cum este posibilă menținerea, în evoluția speciilor, a unei gene care are numai un rol nefast, care duce — prin activarea ei — inevitabil la moarte? Todaro (1978) susține că ar

putea exista mai multe explicații ale menținerii genomului viral (virogen) și a oncogenului atât de mult timp și atât de bine conservat de-a lungul evoluției speciilor. Se pare că virogenul este consecința unei infecții ancestrale cu un virus exogen, infecție realizată cu câteva milioane de ani în urmă, deci înainte de evoluția unor specii animale. La animalele care au supraviețuit, virusul a devenit latent și s-a transmis la descendenți. Menținerea lui ar putea avea un anumit rol binefăcător pentru animal:

(a) Virogenul ar putea să joace un rol normal în procesul de *embriogeneză*; de diferențiere, de dezvoltare și de maturare celulară din timpul vieții embrionare. În acest caz, exprimarea neadekvată a acestei gene în viața adultă este un factor de importanță minoră din punctul de vedere al evoluției speciilor, deși este un accident nefast pentru individ.

Există deja unele indicii (Todaro, 1977, 1978) că gena src conține informația pentru producerea unei substanțe foarte asemănătoare unor hormoni naturali de creștere. S-a văzut că celulele infectate cu virusul sarcomului Rous produc o substanță asemănătoare sau identică cu hormonul natural de creștere a epidermului — EGF (factorul de creștere a epidermului). Acest hormon, în mod normal își produce efectul prin legarea lui de receptori specifici pentru EGF prezenți pe suprafața membranelor celulare. Căutându-se receptori pentru EGF în celulele tumorale umane, s-a văzut că unele nu au astfel de receptori. Se pare că lipsa receptorilor se datorează producerii de EGF (sau a unei polipeptide foarte asemănătoare cu el) de către însăși celula tumorală. Substanța, produsă în cantități mari, blochează astfel proprii receptori, care astfel nu mai pot fi decelați. Recent au fost izolate și parțial purificate aceste polipeptide (antigenic diferite de EGF) și au fost denumite SGFs („sarcoma growth factors” — factorii de creștere ai sarcoamelor) (DeLarco și Todaro, 1978, 1980). SGFs se leagă de receptori pentru EGF ai celulelor netransformate și le stimulează diviziunea și induce transformarea acestora.

S-a observat că unele tumori maligne produc substanțe asemănătoare altor hormoni naturali de creștere: unele fibrosarcoame sintetizează MSA (factorul de stimulare a multiplicării, strâns înrudit cu somatomedinele umane), iar melanoamele NGF (factorul de creștere a nervilor).

Bazându-se pe aceste date, Todaro propune un nou model pentru transformare. În mod normal creșterea celulară a unui organism este controlată de felul în care se manifestă receptori pentru factorii de creștere. Celulele adulte nu răspund la acești factori, pe care ele însele îi produc. O tulburare a acestui echilibru, în sensul unei producții masive de factori de creștere sau al unei alterări în zona receptorilor va determina reapariția diviziunii celulare. Astfel, virusul oncogen ar conține fie gene ale factorilor de creștere, fie gene care ar produce substanțe asemănătoare cu acești factori sau care interacționează cu receptori acestora, mimându-le efectul, adică provocând creșterea și diviziunea celulelor.*

(b) Activitatea virusului fiind legată de transformare, determină apariția pe suprafața membranelor celulare a *noi antigene*, virus-specifice (TSTA, gp 69/71 etc.), provocând astfel punerea în funcțiune a sistemului de apărare imunologică, care va respinge celulele transformate pe care le recunoaște astfel ca străine.

* Vezi addendum

10.6.2.

Teoria protovirusului

(Temin — 1970, 1974, 1976, 1977)

Spre deosebire de teoria anterioară, care presupune că genele pentru transformarea neoplazică există sub o formă reprimată în celulele normale, potrivit teoriei lui Temin celulele normale nu conțin această informație. Cancerul ar apărea datorită achiziționării unei informații noi, a unor secvențe în ADN celular.

Informația nouă, pentru transformarea neoplazică, poate fi adusă de un virus exogen. În cazul leucemiilor găinilor, pisicilor și bovinelor, există dovezi certe că virusul leucemic se transmite orizontal, adică de la un animal la altul, declanșând adevărate ezootii. În aceste tipuri de leucemii, virusul oncogen este cauza bolii maligne prin noua informație pe care o aduce celulei o dată cu integrarea genei src sau onc, conținută în genomul său.

Temin susține că celulele normale nu conțin nici genele pentru transformarea malignă, nici pentru formarea unui virus complet. Atât transformarea neoplazică, cât și formarea virusului ar fi rezultatul unei greșeli în transferul de informație de la ADN la ARN și înapoi la ADN. Majoritatea celulelor normale ar prezenta numai secvențe de nucleotide înrudite cu cele ale virusului, sub o formă neinfecțioasă, denumită de autor „*protovirus*”.

Informația înscrisă în ADN al celulei va fi transcrisă de aici pe ARN, iar apoi retranscrisă prin transcriptaza inversă pe ADN, dar în altă poziție pe cromozom sau într-un mod greșit. În acest joc de la ADN la ARN și înapoi la ADN, care se face rapid, pot să apară foarte frecvent mutații, care, cu totul accidental, ar putea să dea naștere unei informații noi sub formă de genă de transformare, genă canceroasă (fig. 10.20). Să presupunem de exemplu un cromozom celular cu genele: ... STAREVUZXOMI ... Protovirusul transcrie un segment mic XOM în ARN și apoi prin transcriptaza inversă în ADN. Aici se inseră însă în altă zonă ... STAREVUMOXZI ... Prin repetarea aceluiași proces, segmentul UMO poate fi inserat în altă zonă ... STUMOARE-VXZI ..., aparînd astfel o nouă informație care induce cancerul.

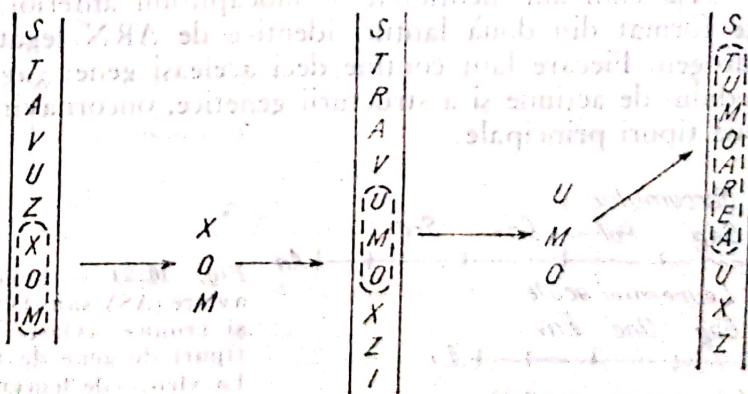


Fig. 10.20. — Schema mecanismului de producere a tumorilor, conform teoriei lui Temin.

ADN → ARN → ADN → ARN → ADN

În același mod ar putea lua naștere și virusul. Inserarea informației noi într-o anumită zonă a cromozomului, care nu se află sub sistemul normal de control al celulei, ar putea să provoace formarea unui provirus și apoi a virusului.

Potrivit acestei teorii, atât cancerul, cât și formarea virusurilor sînt rezultatul unei mutații întîmplătoare în cadrul unui proces normal. Temin susține că nu numai virusurile, ci și alți cancerigeni pot să inducă această mutație într-o țintă specială din genomul celular. Aceste ținte ar fi însăși genele implicate în transferul de informație de la ADN la ARN și înapoi la ADN.

Ca această ipoteză să poată fi plauzibilă, ar trebui ca toate celulele normale să conțină transcriptaza inversă, care să poată realiza transcrierea de la ARN la ADN. Această enzimă este însă o componentă structurală a oncornavirusurilor, neexistînd în celulele normale. Cu toate acestea, în ultimii ani Temin și Mizutani au demonstrat că și celulele aviare normale conțin o transcriptază inversă, care diferă biochimic de transcriptaza inversă a virusurilor.

Pară probabil că acest transfer de informație, care duce la noi secvențe, nu se face la întîmplare, ci depinde de natura tiparului (deci a ADN) și de tipul de transcriptază inversă utilizat. S-ar putea ca generarea unor noi informații să aibă și în mod normal unele funcții celulare, ca de exemplu crearea diversității atât de mari a anticorpilor sau a memoriei. Întîmplător însă, ar putea să dea naștere la secvențe noi, care sînt gene canceroase sau oncornavirusuri.

10.6.3.

Date actuale privind oncogeneza virală

În ultimii ani, ca urmare a cercetărilor extensive și laborioase virusologice, genetice, biochimice și imunologice au fost realizate progrese remarcabile privind mecanismul cancerizării virale, identificarea genelor responsabile de transformarea celulelor și produsul acestor gene. Inițial s-a crezut că datele evidențiate sînt unice, specifice exclusiv pentru virusurile oncogene, dar ulterior s-a constatat că majoritatea lor reprezintă de fapt elemente sau fenomene general valabile pentru funcția normală a celulei.

10.6.3.1.

Oncogeneza prin retrovirusuri (oncornavirusuri)

Așa cum am menționat în subcapitolul anterior, genomul retrovirusurilor este format din două lanțuri identice de ARN legate între ele prin punți de hidrogen. Fiecare lanț conține deci aceleași gene: *gag*, *pol*, *env* și *src*. Pe baza modului de acțiune și a structurii genetice, oncornavirusurile pot fi împărțite în două tipuri principale:

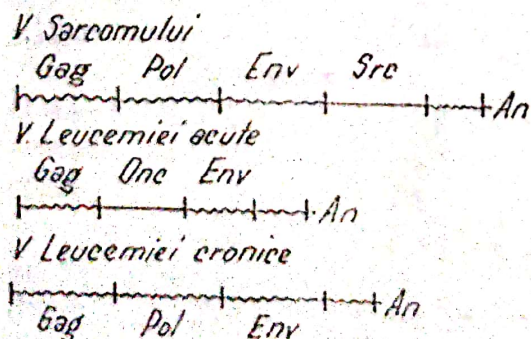


Fig. 10.21. — Genomul virusurilor sarcoamelor aviare (ASV sau RSV), virusurile leucemiilor acute și cronice aviare. Gena *onc* reprezintă diferite tipuri de gene de transformare (*erb*, *mac*, *myb*). La virusurile leucemiilor acute se remarcă deleția parțială a genei *gag* și *env* (reprezentate prin porțiuni mai scurte). Virusurile leucemiilor cronice sînt lipsite de gene de transformare (Bishop, 1980).

a) virusurile sarcoamelor sînt puternic oncogene *in vivo*, induc rapid sarcoame (în cîteva zile sau săptămîni) și transformă celulele normale (fibroblaste) *in vitro*. Aceste virusuri pot să fie nedefective, capabile să se replice

singure (virusul sarcomului Rous, RSV) atunci cînd posedă toate cele patru gene (*gag*, *pol*, *env*, *src*) sau defectivă, capabile să se replice numai cu ajutorul unui virus helper, datorită pierderii (deleției) genei *env* (majoritatea virusurilor sarcoamelor mamiferelor). La ambele capete ale genomului există o mică porțiune formată din cîteva sute de nucleotide excedentare, denumite terminațiile redundante denumite LTR (Long Terminal Repeat) (fig. 10.21, 10.22);

Fig. 10.22. — Mecanismul transformării prin RSV. Transcrierea genomului viral în ADN de către revers-transcriptază. ADN este închis în formă circulară (inel) și apoi integrat în genomul celulei sub formă de provirus.

G — gena *gag*; P — gena *pol*;
E — gena *env*, S — gena *src*,
R — porțiunile redundante terminale LTR.

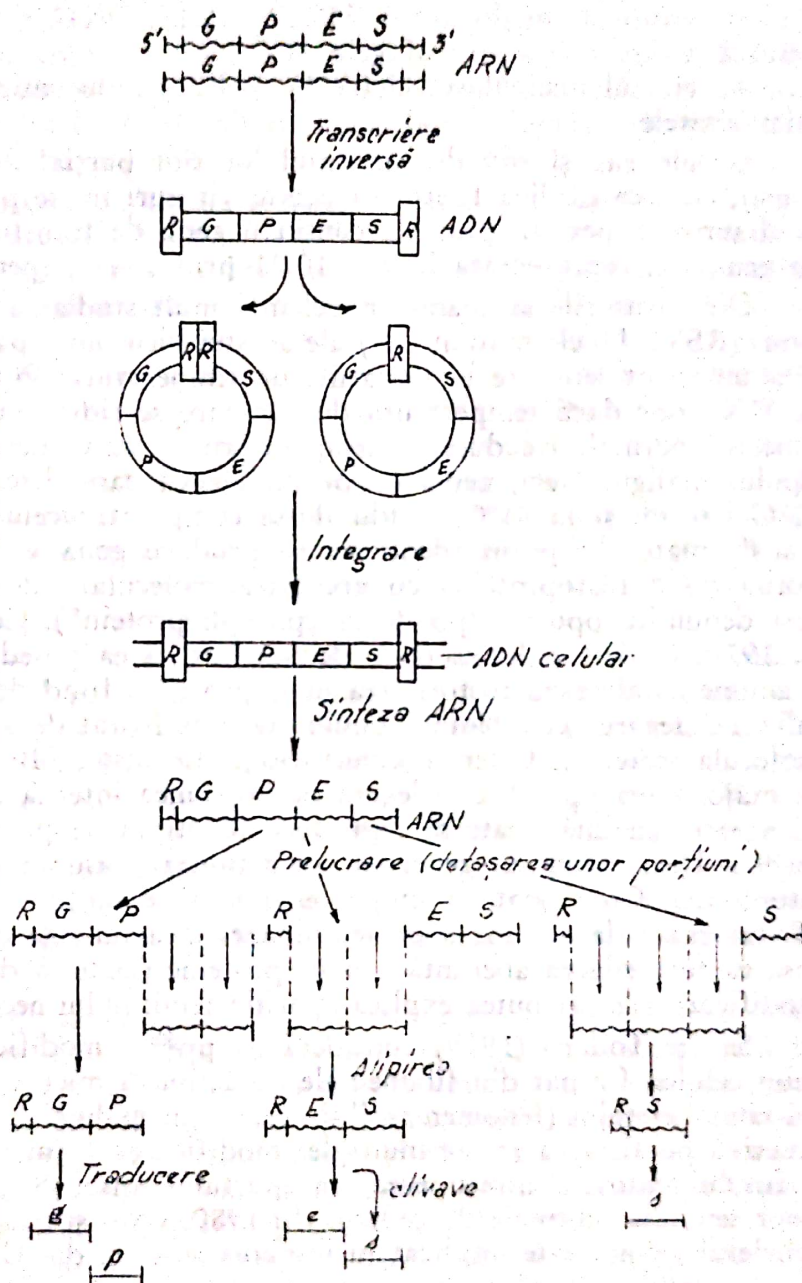
Exprimarea genomului provirusului:

1 — Sinteza unui ARN mare (pre ARN) care cuprinde toate genele virale;

2 — Prelucrarea pre ARN: scindarea pre ARN cu eliminarea unor porțiuni și lipirea fragmentelor restante „splicing” pentru a se forma ARN mesager;

3 — Traducerea mARN, formarea proteinelor virale și a proteinei transformante (pp60src)

(Bishop, 1980, modificat)



b) virusurile leucemiilor cronice sînt slab oncogene *in vivo*, induc leucemii după o perioadă lungă de timp și nu transformă celulele *in vitro*. Genomul lor este format numai din trei gene: *gag*, *pol* și *env* și conține de asemenea terminațiile redundante. Deci, genomul conține toată informația necesară pentru replicarea virală, dar nu posedă informația pentru transformare (gena *src*). În ultimii ani a fost descrisă a treia categorie de retrovirusuri aviare;

c) virusurile leucemiilor acute denumite și virusurile leucemiilor cu replicare defectivă (DLV „replication defective leukemia viruses”) care induc după un scurt timp leucemii *in vivo* și transformarea celulelor *in vitro*. Pe baza tipului de neoplazie indusă și a celulelor pe care le transformă *in vitro* sînt împărțite în trei subgrupe:

- virusurile eritroblastozei aviare (AEV), dau eritroblastoză și transformă eritroblastele,

- virusurile mielocitozei (MC29, CM11, OK10 și MH2) induc mielocitomatoză și transformă macrofagele,

- virusul mieloblastozei (AMV și E26) induc mielomatoza și transformă mieloblastele.

Genele *gag* și *env* din genomul lor sînt parțial deletate (lipsește o porțiune), ceea ce explică faptul că aceste virusuri nu se pot replica fără ajutorul unui virus helper. În plus ele conțin o genă de transformare complet diferită de gena *src*, reprezentată în fig. 10.21 prin „*onc*”, (pentru unii autori „*luk*”).

Din virusurile sarcoamelor, cel mai mult studiat a fost virusul sarcomului Rous (RSV). Unele mutante (ts) ale acestui virus au o particularitate interesantă și anume sînt sensibile la variațiile de temperatură. Pot să transforme celulele la 32°C, dar dacă temperatura de incubare se ridică la 41°C celulele își reiau aspectul normal. Readucerea temperaturii la 32°C determină reapariția fenotipului malign. Deci, gena *src* produce ceva care determină transformarea la 32°C dar nu și la 41°C. Studiindu-se comparativ celulele transformate și ne-transformate s-a putut identifica ce produce gena *src*. S-a constatat că este vorba de o fosfoproteină cu greutatea moleculară de 60 kilodaltoni, care a fost denumită pp60^{src} (pp de la „phosphoprotein”). Ce face această proteină? În 1978, Collett și Erikson au demonstrat că ea posedă activitate enzimatică, și anume catalizează fosforilarea unor proteine, fiind deci o proteinkinază (catalizează legarea covalentă a unui radical de fosfat de amino-acidul tirozină din molecula proteică). Ulterior, Courtneidge, Levinson și Bishop (1980) au constatat că majoritatea pp60^{src} este legată de porțiunea internă a membranei celulare și că această enzimă poate să reproducă fenotipul neoplazic în celulele lipsite de nucleu. Deci, produsul genei *src* nu acționează asupra genomului celulei, ci în citoplasmă. Cum poate o simplă enzimă să determine atîtea alterări celulare? Modul exact de acțiune a proteinkinazei încă nu este complet elucidat; se știe însă că fosforilarea aberantă a unor proteine poate să ducă la o multitudine de modificări, care ar putea explica apariția fenotipului neoplazic.

Sen și Todaro (1979) consideră că pp60^{src} modifică proteinele citoscheletului celulei, format din filamentele de actină și microtubuli, ducînd la dispariția citoscheletului (fenomen întîlnit curent în malignizare). Această acțiune distructivă poate avea efecte multiple: modificarea formei celulei, a motilității ei, a fusului mitotic, întreruperea transportului intracelular și deci a transmiterii unor semnale normale de control. În 1980, Otto și colab. au constatat că citoscheletul celular este implicat în inițierea sintezei de ADN, deci și în multiplicarea celulelor. În plus, prin fosforilarea unei proteine extracelulare, fibrinolectina, poate să survină dezagregarea ei, avînd ca efect dispariția adezivității dintre celule și a ancorării de suprafață, deci posibilitatea creșterii celulelor în straturi multiple și în mediu semisolid (agar), caractere binecunoscute ale transformării celulelor (tabelul 10.VI).

Se părea că descoperirea pp60^{src} clarifică enigma modului în care se realizează oncogeneza prin retrovirusuri, cînd, surprinzător, în 1979, Spector,

Varinus și Bishop demonstrează că și celulele normale conțin secvențe de ADN foarte asemănătoare genei *src*. Omologul celular normal al genei *src* — gena *sarc* — codifică informația tot pentru o fosfoproteină cu greutatea moleculară de 60 kilodaltoni, care de asemenea are activitate proteinkinazică. Această fosfoproteină — pp⁶⁰_{src} — este prezentă în toate celulele animalelor vertebrate examinate până în prezent, inclusiv în cele umane (Bishop, 1980). Se pare deci, că *sarc* este o genă veche, menținută intactă în cursul evoluției la toate speciile care au evoluat dintr-un strămoș comun. În celulele transformate de virusurile sarcoamelor cantitatea de proteinkinază este de aproximativ 100 de ori mai mare decât în celulele normale. S-ar părea deci, că transformarea este provocată de variațiile pur cantitative ale enzimei, deci de supraproducerea unui component normal al celulei.

Similitudinea dintre gena virală *src* și gena normală *sarc* sugerează că gena virală, care de fapt nu are nici o importanță pentru ciclul normal de viață al virusului, nu reprezintă altceva decât încorporarea unei porțiuni din genomul gazdei în genomul viral. Verificarea acestei ipoteze a fost făcută în 1980 de Hanafusa, Wang și colaboratorii, care au reușit să genereze virusul sarcomului *de novo* prin infectarea păsărilor cu oncornavirusuri netransformante (lipsite de *src*). După replicarea acestor virusuri, *in vivo*, din celulele infectate au putut fi izolate virusuri care transformau celulele *in vitro*, virusuri care posedau gena *src*. Deci noile virusuri au reușit să achiziționeze această genă din genomul celulei gazdă. Fenomenul a putut fi reprodus și la mamifere. Dacă se infectează șobolanii cu virusul netransformant al leucemiei șoarecilor (MuLV) se pot obține virusuri transformante ale sarcomului murin, virusuri care posedă gena *src* provenită de la șobolani (tulpină Harvey și Kirsten a MSV).

Supraproducția pp^{60src} poate să constituie singura cauză a transformării? Se pare că nu. Probabil că pe lângă producerea aberantă de proteinkinază este necesară și existența substratelor adecvate pentru activitatea ei enzimatică. Celulele nervoase posedă în viața embrionară și adultă o cantitate mult mai mare de enzimă decât restul celulelor, dar ele nu pot fi transformate de RSV, spre deosebire de alte celule (fibroblaste). Se pare deci că ele nu conțin proteinele adecvate care să constituie substratul proteinkinazei pentru inducerea transformării (Erikson, 1982). În prezent se studiază modul în care sînt afectate proteinele celulare de către pp^{60src} și care din acestea reprezintă substratul propice activității enzimei.

În ultimii ani s-a constatat că gena *src* nu este unica genă de transformare a celulelor (au fost identificate aproximativ zece oncogene). Malignizarea nu este consecința exclusivă a produsului genei *src*-proteinkinaza. Virusurile leucemiilor acute, de exemplu, posedă alte gene de transformare, complet deosebite, gene care nu sînt încă bine caracterizate chimic și din acest motiv sînt desemnate în figura 10.21 sub denumirea comună de „*onc*” — de la oncogene (pentru unii autori „*luk*” — gene ale leucemiilor). Ca și în cazul genei *src*, genele *onc* provin din genomul normal al celulelor (omologul normal al genei *luk* ar fi *leuk*). Aceste gene au fost denumite de Beug, Graft și Stehelin (1979): *erb*, *mac* și *myb*, fiecare din ele specifică pentru una din cele trei subclase ale virusurilor leucemiilor acute aviare. Produsul acestor gene sînt poliproteine cu greutatea moleculară mare, deoarece cuprind și informația codificată de gena *gag* (sub formă de Δ *gag-erb*, Δ *gag-mac*, Δ *gag-myb*). Graft și Beug susțin că genele *erb*, *mac* și *myb* codifică informația unor proteine necesare în mod normal în diferențierea celulelor pe care le transformă. Prin faptul că aceste proteine sînt sinteti-

zate sub o formă alterată (împreună cu *gag*), ele blochează diferențierea celulelor hematopoietice prin inhibiție competitivă cu proteinele normale. Această ipoteză poate să explice faptul că, deși virusurile leucemiilor acute infectează toate tipurile de celule hematopoietice, ele transformă numai acele tipuri de celule în care proteina are, în mod normal, un rol în procesul de diferențiere (*erb* în eritroblaste, *mac* în macrofage, *myb* în mieloblaste).

Mecanismul prin care are loc achiziționarea oncogenelor de către retrovirusuri nu este încă elucidat. Sînt posibile două modalități:

- a) Recombinarea* dintre genomul unui retrovirus și genomul celulei;
- b) Recombinarea dintre două virusuri endogene.

Primul mecanism a fost demonstrat de experiențele care au creat virusuri transformate *de novo*. Se știe că retrovirusurile se integrează în genomul gazdei. Se pare că în această integrare un rol important îl joacă porțiunile terminale redundante. Acestea pot să confere virogenului atributele unui element transpozabil sau transpozon. Elementele transpozabile sînt fragmente sau segmente de ADN care se pot muta dintr-o poziție a genomului celulei în altă poziție. Ele pot sări de pe un cromozom pe alt cromozom fiind denumite din acest motiv „gene saltante” (jumping genes). În plus, transpozonii au capacitatea de a declanșa sau intrerupe exprimarea materialului genetic. Fenomenul a fost verificat experimental de Woude (1981), care a reușit transformarea celulelor prin adăugarea unei porțiuni foarte mici din genomul virusului genei normale *sarc* a celulelor murine. ADN viral a dat semnalul de inițiere a transcrierii acestei gene pe ARN, în consecință a fost sintetizată proteinkinaza în exces și astfel a avut loc transformarea. S-ar putea explica astfel și alte fenomene întâlnite frecvent în cancer ca: derepresia unor gene în mod normal mute, avînd ca efect apariția antigenelor onco-embrionare, hormonilor ectopici etc.

A doua modalitate se realizează cu frecvență mai mare, în special la liniile pure de animale. Colectivele conduse de Old (1977, 1981) și Rowe (1977, 1981) au demonstrat că apariția leucemiei murine la șoarecii AKR este precedată de recombinația dintre două virusuri endogene: unul ecotropic și celălalt xenotropic. Astfel ia naștere un nou tip de virus, așa numitul MCF („mink cell focus-forming”) care accelerează apariția limfoamelor tipice.

Deci, genele de transformare (oncogenele) pot fi de mai multe tipuri: *src*, *erb*, *mac*, *myb*, probabil *mam* (virusul carcinomului mamar) etc., iar lista lor se poate prelungi în viitor.

Virusurile leucemiilor cronice nu conțin însă oncogene și afectează specific anumite celule (fig. 10.21). Deoarece leucemiile apar după o perioadă lungă de latență, se presupune că malignizarea se face prin alte mecanisme.

În literatură au fost propuse mai multe ipoteze (Levy, 1981, Klein 1981):

- a) viremia induce generarea unor limfocite T preleucemice prin stimularea cronică, continuă, realizată de antigenele virale sau prin acțiunea mitogenă a acestor antigene datorită legării lor de suprafața limfocitelor T;
- b) leucemia este consecința recombinației dintre două virusuri endogene (ecotropic și xenotropic), care duce la formarea unui virus nou, leucemic;
- c) datorită creșterii frecvenței mitozelor provocată de virusurile leucemice (preleucemie) pot să survină aberații cromozomiale care ar fi cauza apariției leucemiilor (de exemplu trisomia cromozomului 15 la leucemia murină). Zona distală a cromozomului 15 conține arii de supergene care reglează diferențierea și funcția normală a limfocitelor. Timpul lung de latență ar fi, de fapt, timpul necesar pentru apariția acestor translocatii cromozomiale;
- d) virusurile leucemice ar putea induce o imunosupresie care facilitează dezvoltarea unor clone de celule transformate;
- e) leucemia s-ar produce printr-o modificare, de către virusuri, a mediului în care are loc maturarea limfocitelor (epiteliul timic sau măduva oaselor). Limfocitele dezvoltate în acest mediu alterat ar deveni astfel leucemice.

* Recombinarea este un schimb de informație genetică petrecut între două genoame.

În concluzie, oncogeneza prin retrovirusuri se poate realiza prin mai multe mecanisme:

a) virusurile pot provoca supraproducția unei proteine celulare normale și prin aceasta perturbarea funcției celulelor;

b) virusurile pot să inverseze sau să blocheze calea normală de diferențiere celulară;

c) virusurile pot să întrerupă funcțiile reglatoare normale din celulă;

d) virusurile pot să modifice unele proteine sau enzime celulare, prin cuplarea lor cu proteine virale și în acest fel să inhibe competitiv funcția lor normală;

e) virusurile pot să producă substanțe similare hormonilor sau factorilor de creștere, care promovează creșterea și proliferarea celulelor. Un exemplu edificator îl constituie SGF („sarcoma growth factors”) sintetizat de celulele transformate de RSV și care prin efectele lui similare cu cele ale hormonului natural EGF autoîntreține multiplicarea celulelor (vezi secțiunea 10.6.1.).

Exprimarea genomului viral este controlată de genomul celulei, de gene reglatoare situate în vecinătatea provirusului sau la distanță (fig. 10.19). Deci toate aceste mecanisme de cancerizare se află de fapt sub controlul celulei gazdă. Modificările acestei celule pot să atenueze sau să accentueze exprimarea genomului viral, fără să influențeze prezența provirusului în genomul celulei. Prin integrarea provirusului în anumite zone ale genomului celular poate însă să aibă loc o scăpare de sub controlul normal, urmată de exprimarea potențialului oncogen.

În plus, cancerizarea este influențată și de factori din exteriorul celulei, care pot să moduleze exprimarea genelor virale. De exemplu, glucocorticoizii (în special dexametazon) stimulează transcrierea genomului virusului carcinomului mamar de șoarece. În oncogeneză intervin deci atât factorii virali, cât și cei celulari.

10.6.3.2.

Oncogeneza prin virusuri ADN

Virusurile oncogene ADN: papova, adeno și herpes diferă mult în privința ciclului viral, a genomului, morfologiei etc., dar în ceea ce privește mecanismele prin care realizează transformarea celulelor au multe puncte comune. Pentru elucidarea acestor mecanisme au fost studiate în special virusurile din grupa papova, mai ales SV₄₀. În prezent, genomul acestui virus este cunoscut. El este format dintr-un ADN dublu catenar, care conține aproximativ 5 000 de perechi de nucleotide (fig. 10.23) secvența genelor din genom a fost elucidată cu ajutorul mutantelor ts, dar mai ales prin realizarea unor mutante artificiale create prin „inginerie genetică”.

Pentru studierea genomului virusului au fost utilizate enzime speciale, de proveniență bacteriană, care au proprietatea de a „tăia” ADN într-un loc precis, la o anumită secvență de nucleotide. Pentru elucidarea compoziției genomului viral Nathan și colab., au utilizat mai multe tipuri de astfel de enzime denumite „endonucleaze de restricție”: EcoRI, Hln 1–11, Hpa 1–4, Bgl I și II etc.*. Cu acestea a „tăiat” ADN viral în mai multe fragmente. Pe fragmentele astfel obținute a fost analizată secvența acizilor nucleici, obținându-se astfel structura exactă a genomului SV₄₀, secvența celor 5 226 de perechi de baze din ADN al virusului (Nathan, 1979). Ulterior s-a alcătuit harta genelor cuprinse în ADN viral și funcția acestor gene.

* Denumirea endonucleazelor derivă de la sursa lor, de exemplu *EcoR* de la *E. Coli* tulpina *R*, *Hln* — *Haemophilus influenzae* etc.

genul T de la SV₄₀ și adenovirusuri și mT de la polioma sînt fosfoproteine care au activitate de proteinkinaze (asociată sau nu cu activitate ATP-azică). Se pare deci, că mecanismele prin care este realizată transformarea celulelor prin gena *src* nu sînt fenomene singulare, ci reprezintă un fenomen mai general în oncogeneza virală.

Studierea virusurilor oncogene a creat condițiile pentru înțelegerea mecanismelor prin care se realizează transformarea celulelor și carcinogeneza *in vivo*. Deși există încă numeroase aspecte neelucidate, cercetările din acest domeniu au reușit să clarifice aspecte inedite nu numai în privința modului de acțiune a acestor virusuri, ci și în biologia însăși a celulei normale și maligne. Din datele expuse rezultă că, pentru a induce cancerul, virusurile oncogene trebuie să infecteze o celulă susceptibilă, să se integreze în genomul ei, iar aici să fie prezenți factori genetici favorabili, să poată să-și exprime informația prin scăparea de sub sistemele de control celular, să întâlnească în plus condițiile de mediu favorabile, iar celulele malignizate să reușească să scape de sub controlul imunității. Din simpla înșiruire a cîtorva din multiplii factori a căror acțiune este absolut necesară în apariția și dezvoltarea malignității virale, reiese clar că în infecțiile cu virusuri oncogene, cancerul este mai curînd un accident decît o regulă.

11.

Virusurile oncogene umane

MONICA CRIȘAN

Cuprins

- 11.1. Metodele de studiere a virusurilor oncogene umane — 392
 - 11.1.1. Metode epidemiologice — 392
 - 11.1.2. Evidențierea virusurilor prin microscopie electronică — 392
 - 11.1.3. Studii imunologice — 393
 - 11.1.3.1. Evidențierea anticorpilor antivirali — 393
 - 11.1.3.2. Evidențierea antigenelor virale — 394
 - 11.1.4. Studii biochimice — 395
 - 11.1.4.1. Metoda hibridizării moleculare a acizilor nucleici — 395
 - 11.1.4.2. Decelarea revers-transcriptazei (ADN-polimeraza dependentă de ARN) — 397
 - 11.1.4.3. Decelarea simultană a ARN 70 S și revers-transcriptazei — 397
 - 11.1.5. Transmiterea experimentală a tumorilor maligne prin virus — 397
 - 11.1.5.1. Transmiterea *in vivo* — 397
 - 11.1.5.2. Transmiterea *in vitro* (transformarea celulelor) — 398
- 11.2. Herpes virusurile — 398
 - 11.2.1. Virusul Epstein-Barr (EBV) — 399
 - 11.2.1.1. Limfomul Burkitt (LB) — 399
 - 11.2.1.2. Carcinomul nazo-faringian — 403
 - 11.2.2. Herpesvirusurile Simplex tip 1 și 2 — 405
 - 11.2.3. Virusul citomegalic (CMV) — 407
- 11.3. Oncornavirusurile — 407
 - 11.3.1. Oncornavirusurile tip C — 407
 - 11.3.2. Oncornavirusurile tip B (D?) — 412
- 11.4. Virusurile Papova umane — 415
 - 11.4.1. Virusul papiloma (HPV) — 415
 - 11.4.2. Virusurile JC și BK — 415
- 11.5. Virusul hepatitei B (HBV) — 416
- 11.6. Concluzii — 417

Pînă în prezent există puține fapte (și acelea discutabile) care ar putea servi ca argumente în favoarea naturii virotice a cancerelor umane. Cu toate că unii autori au semnalat în foarte multe cancere umane prezența unor virusuri (vizibile la microscopul electronic), s-a constatat în majoritatea cazurilor că aceste virusuri sînt „pasagere”, ele există accidental în tumoare. Spre deosebire de etiologia virotică incontestabilă a unor tumori benigne umane

(Molluscum contagiosum, unele papiloame ca cel laringian), natura virotică a unor tumori maligne este suspectată doar în câteva localizări: limfomul Burkitt, unele limfosarcoame, limfogranulomatoze maligne și leucemii și unele cancere rino-faringiene, uterine și mamare.

Raritatea, pînă la contestare, a tumorilor maligne virotice la om contrastează cu frecvența mare a tumorilor (maligne și benigne) incontestabil de natură virotică, constatată la animale din specii foarte diferite (batracieni, reptile, păsări, mamifere: rozătoare, veverițe, iepuri, bovine, maimuțe etc.). De ce omul ar diferi atît de radical de celelalte animale și nu ar avea cancere cu etiologie virotică? Acest argument, de natură pur logică, este invocat frecvent de susținătorii etiologiei virotice a cancerelor umane. Astfel, renumitul virusolog L. Gross declara în 1964: „Pentru ce doriți dumneavoastră ca boala canceroasă la om să nu fie de origine virotică? Dați-mi un singur argument că ar putea fi altfel, și atunci vă voi răspunde”. Faptul că din majoritatea cancerelor umane nu s-au putut izola virusuri oncogene, care să genereze apoi cancere prin inoculare la animalele de experiență, nu constituie un contraargument valabil pentru susținătorii teoriilor virotice ale cancerelor umane. Nu este exclus, susțin acești autori, ca virusurile oncogene să existe sub o formă inaparentă, „mascată”, în tumoarea deja constituită, sub formă de provirus, așa cum s-a demonstrat deja pe modelele experimentale la animale. Demonstrarea acțiunii oncogene, la animale, a unor virusuri umane „banale” (ca adenovirusurile), a dus la ipoteza plauzibilă că unele virusuri banale (ca herpesvirusurile) ar putea să joace un rol în geneza cancerelor umane. Potrivit altei ipoteze, virusurile ar avea un rol de factori cocancerigeni, în sensul că ar potența acțiunea cancerigenă a unor substanțe chimice, care administrate în doze mici nu ar putea să declanșeze singure cancerizarea. Elucidarea acestor probleme prin metode experimentale este îngreuiată de faptul că experimentarea pe om contravine deontologiei medicale, iar la animalele de experiență utilizate în mod curent în laboratoare este posibil ca aceste virusuri, presupuse oncogene pentru om, să nu-și manifeste efectele.

Singurele virusuri umane care inoculate la animale nou-născute (rozătoare) au provocat cancere, sînt pînă în prezent adenovirusurile, considerate la om ca virusuri „banale”. Din acestea s-au dovedit puternic oncogene la rozătoarele nou-născute, tipurile 12, 18 și 31. Dacă se are în vedere largă răspîndire a adenovirusurilor, în sensul că aproape nici un om nu scapă infectării cu aceste virusuri în cursul vieții, apare firească întrebarea dacă nu cumva aceste virusuri joacă un rol în cancerizarea omului. Broniński a demonstrat în 1964 prezența adenovirusului tip 5 în cancerul pulmonar uman, ceea ce a repus în discuție această ipoteză, cel puțin în etiologia cancerului bronho-pulmonar. Există însă cel puțin două contraargumente:

— adenovirusul tip 5 populează în mod obișnuit aparatul respirator al omului, iar izolarea lui din adenocarcinoamele pulmonare poate fi doar o coincidență, fără să se poată afirma un raport cauzal. În general tumorile maligne sînt populate de virusuri neoncogene, banale, deoarece celulele maligne constituie un teren favorabil pentru dezvoltarea virusurilor;

— există virusuri — de exemplu SV₄₀ — care nu induc cancere la gazda lor naturală (în acest caz maimuța), în schimb provoacă cu ușurință apariția de cancere la rozătoare, dacă sînt inoculate în perioada neonatală.

Rezultă că extrapolarea la om a unor rezultate obținute pe animale este exagerată și hazardată.

S-a discutat și se discută încă posibilitatea ca unele virusuri ale păsărilor sau mamiferelor care trăiesc în preajma omului să declanșeze, în unele condiții, cancere umane. Aceste virusuri oncogene ale animalelor se răspândesc rapid în jur, contaminând alimentele și alte animale. Studiind contagiozitatea virusului poliomicului, Robert J. Huebner de la Institutul Național de Sănătate din SUA a constatat că:

— 40% din șoarecii de experiență se contaminatează prin urina, saliva și fecalele animalelor infectate;

— din 60 de șoareci sălbatici capturați din pivnițele Harlemului, 20% sînt infectați cu V. polioma;

— cercetîndu-se boabele cerealelor depozitate în diferite magazine, s-a constatat contaminarea cu virus în 49% din eșantioane.

Deoarece în studierea oncogenezei virotice la om nu se pot utiliza metode directe, argumentele în favoarea etiologiei virale a cancerului se bazează pe datele obținute prin metode indirecte: epidemiologice, de microscopie electronică, biochimice, imunologice și de transmitere experimentală (fie *in vitro* — prin infectarea culturilor celulare, fie *in vivo* — prin infectarea altor specii de animale). În interpretarea acestor date trebuie să fie luate în considerare cunoștințele acumulate deja din modelele experimentale la animale.

11.1.

Metodele de studiere a virusurilor oncogene umane

11.1.1.

Metode epidemiologice

Acestea urmăresc evidențierea unor focare de malignitate, a unor zone limitate în timp și spațiu cu o incidență crescută a anumitor cancere. Existența unor astfel de focare poate sugera prezența unei transmiteri orizontale, similară cu cea observată în epidemiile obișnuite, sau în cîteva malignități la animale: leucemia bovinelor, pisicilor, probabil a maimuțelor (gibon și babuin), boala Marek și limfoleucoza găinilor. Transmitia orizontală s-ar putea realiza fie direct, de la bolnav la persoane sănătoase, fie indirect, prin vectori, de exemplu înțepături de insecte.

Incidența crescută familială a unei anumite forme de cancer ar putea pleda pentru o transmitere congenitală (transplacentară de la mamă la făt) sau verticală (de la părinți la copii prin celulele germinale).

În general, aceste studii sînt însă greu de interpretat, deoarece incidența crescută observată poate fi rezultatul factorilor de mediu, factorilor genetici (în cazurile familiale) sau pur și simplu al întîmplării. În plus, faptul că majoritatea cancerelor au o perioadă lungă de latență, face și mai dificilă aprecierea gradului de contagiozitate într-o anumită colectivitate.

11.1.2.

Evidențierea virusurilor prin microscopie electronică

Din studiile experimentale, la animale, se știe că și această metodă are o valoare limitată, deoarece:

a) Existența unor particule virale mature în tumoarea malignă nu este o dovadă a cauzalității, a etiologiei virotice a tumorii. S-a constatat că:

— tumorile animalelor, spontane sau de transplantare, sînt infectate frecvent cu virusuri „pasagere”, adică virusuri care găsesc în celulele maligne un mediu favorabil de dezvoltare, dar care nu pot fi incriminate în etiologia bolii (de exemplu carcinoamele și sarcoamele murine conțin adesea virusuri banale sau ale leucemiei murine);

— au putut fi izolate oncornavirusuri din culturile de celule normale ale diferitelor specii de animale, inclusiv umane;

— oncornavirusuri de tip C există în placentele normale umane.

b) Inexistența particulelor virale mature în tumori nu exclude etiologia lor virotică, deoarece se știe că în majoritatea cancerelor induse viral la animale, virusul există sub formă „mascată”, fiind integrat în genomul celulelor malignizate, celule care nu sînt productive (vezi capitolul anterior). Demascarea virusului, adică inducerea maturării, se poate realiza uneori prin iradierea celulelor sau tratarea lor cu unele substanțe mutagene (pirimidine halogenate, ca 5'-bromo- sau 5'-iododezoxiuridină). În cancerele umane, însă, astfel de încercări de demascare au dat numai foarte rar rezultate. În general, particulele depistate prin microscopia electronică care seamănă cu virusurile, indiferent că prezintă structura unor tipuri de virusuri cunoscute sau necunoscute, sînt etichetate ca particule similare virusurilor (virus-like) pînă cînd este obținută caracterizarea lor biologică, biochimică și imunologică. Virusurile nu pot fi caracterizate numai prin morfologia lor, deoarece unele detritusuri celulare pot imita structura unor virusuri.

11.1.3.

Studii imunologice

Acestea sînt realizate, în esență, prin două metode:

11.1.3.1.

Evidențierea anticorpilor

Evidențierea anticorpilor în serul bolnavilor cu cancer față de antigenele virusului suspectat ca agent etiologic al bolii. Astfel de studii sero-epidemiologice au fost și sînt larg utilizate în elucidarea etiologiei virotice a unor cancere umane, deși rezultatele lor sînt greu de interpretat, deoarece virusurile oncogene sînt larg răspîndite, fapt care determină existența anticorpilor față de ele la majoritatea populației adulte.

11.1.3.2.

Evidențierea antigenelor virale

Evidențierea antigenelor virale sau virus-induse în tumorile maligne, antigene care constituie „amprente” ce demască existența virusului, chiar dacă celulele nu sînt producătoare de virus matur reprezintă a doua metodă. Aceste antigene virale sînt identice pentru toate tumorile induse de același virus (spre deosebire de antigenele diferite ale tumorilor induse chimic), deoarece sinteza lor este dirijată de informația conținută în genomul virusului. Din oncovirologia experimentală se știe că celulele tumorilor maligne pot conține două categorii de antigene virale:

Antigene structurale, proprii virusului, care fac parte din nucleocapsida sau anvelopa virionului. Aceste antigene evidențiable în malignitățile induse de oncornavirusuri pot fi: specifice de tip (ts — „type specific”), de grup (gs — „group specific”), sau interspecii (IGSA — „interspecies group specific antigen”).

— *Antigenele specifice de tip* sînt antigene care se găsesc numai pe un singur tip de virus (de obicei antigene ale anvelopei virusului);

— *antigenele specifice de grup* sînt comune pentru toate tipurile de oncornavirusuri ale unei specii animale. Cu ajutorul lor se poate identifica specia animală de la care provine un virus necunoscut, proaspăt izolat;

— *antigenele interspecii specifice* sînt comune pentru virusuri provenite de la specii de animale diferite. (De exemplu, oncornavirusurile izolate de la specii diferite de mamifere: șoareci, pisici, maimuțe au un antigen comun p 30. Antigenul p 30 al mamiferelor diferă însă antigenic de p 30 al oncornavirusurilor păsărilor.)

Mai recent, antigenele sînt denumite în funcție de natura lor chimică și greutatea moleculară (de exemplu gp 69/71 — glicoproteină cu greutatea moleculară 69—71 000 sau p 30 — proteină cu greutate moleculară 30 000) (tabelul 11.I).

TABELUL 11.I

ANTIGENELE ONCORNAVIRUSURILOR AVIARE MURINE ȘI FELINE
(KURTH și COLAB., 1979)

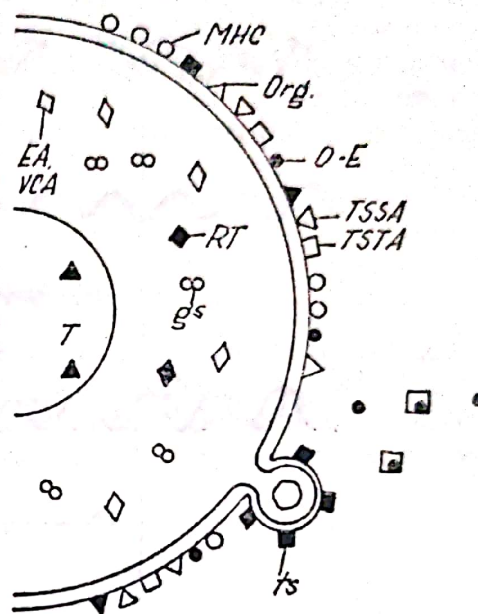
5'	gag	pol	env	src	e	AA ... A _n
	Proteine structurale ale simbului (mlez)	Revers transcriptază RN-ază H Endonucleaze	Glicoproteine ale anvelopei	Proteina transformantă	Regiune constantă (redundantă)	
Aviare: p19, p27, p12, p15		p90, p65, p32	gp85, gp37	pp60 ^{src}	?	
Murine: p15, p12, p30, p10		p84	gp70, p15(E)*	?	?	
Feline: p15, p12, p30, p10		?	gp70, p15 (E)	p65	?	

* p15(E) este proteină cu greutatea moleculară 15.000 din anvelopa virusului, antigenic diferită de proteina cu aceeași greutate moleculară (p15) din nucleocapsidă (simbure).

Antigenele nestructurale sau induse viral sînt antigene care, deși nu fac parte din structura virusului, sînt sintetizate în urma exprimării informației conținute în genomul virusului. Din acestea, cele mai studiate sînt (fig. 11.1):

- antigenele asociate tumorii de pe suprafața celulei (antigene S sau TASA = „tumour-associated cell surface antigens”);
- antigenele de transplantare specifice tumorale (TSTA) sau asociate tumorii (TATA);
- antigenele intracelulare: citoplasmatică sau intranucleare (de exemplu antigenul T).

Fig. 11.1. — Reprezentarea schematică a eterogenității antigenelor din celulele transformate viral (virusuri oncogene ARN și ADN). Pe membrana celulară există antigene normale: de histocompatibilitate (MHC), de organ și / sau țesut (Org), de diferențiere și altele (de grup sanguin, antigene Forssman etc.). Tot pe membrană apar antigene induse viral (TSTA, TASA), antigene virale structurale (ts, tip-specifice la oncornavirusuri) și onco-embionare (O-E). În citoplasmă pot să apară antigene ale capsidei virale (gs, grup-specifice și RT — reverstranscriptaza la oncornavirusuri sau EA, VCA la virusuri ADN), în nucleu antigenul T (la virusuri ADN), iar extracelular antigene solubile (Mathé și Cattani, 1976 și Coggin, 1979, modificat).



În plus, infecția cu virusuri oncogene poate determina apariția, în celulele transformate, a antigenelor fetale sau embrionare, antigene care în mod normal sînt exprimate în viața intrauterină, dar sînt reprimare la adulți.

Chiar dacă se depistează un antigen identic pe mai multe tipuri de tumori, sau pe același tip de tumoare la diferite persoane, deși sugerează etiologia virală a acestor tumori, nu înseamnă neapărat că prezența acestui antigen comun se datorează unui virus oncogen. Antigenele comune pot fi antigene fetale, care apar și în carcinogeneza chimică, pot să reflecte modificări biochimice care sînt similare în mai multe forme de cancer, sau pot fi date de reacții fals-pozitive (reacții încrucișate).

11.1.4.

Studii biochimice

Acestea sînt utilizate în special pentru evidențierea prezenței virusului „mască”, integrat în genomul celulelor canceroase, celule care nu sînt deci producătoare de virus. În esență sînt folosite trei categorii de metode:

11.1.4.1.

Metoda hibridizării moleculare

Metoda hibridizării moleculare a acizilor nucleici se bazează pe interacțiunea specifică dintre două catene sau lanțuri de polinucleotide, ale căror baze se vor împerechea formînd o dublă catenă numai în cazul în care nucleotidele

sînt complementare. În general se utilizează trei tipuri de reacții de hibridizare: ADN-ARN, ADN-ADN și ARN-ARN. Pe scurt, într-o primă etapă se sintetizează un lanț complementar de acid nucleic marcat cu izotopi radioactivi (H^3 sau P^{32}). De exemplu, un ADN complementar (cADN) pe matrița ARN al oncornavirusului, sau invers, un ARN complementar (cARN) marcat pe ADN al virusurilor oncogene cu ADN. În al doilea timp se testează gradul de hibridizare, adică de împerechere între acidul nucleic marcat (cADN sau

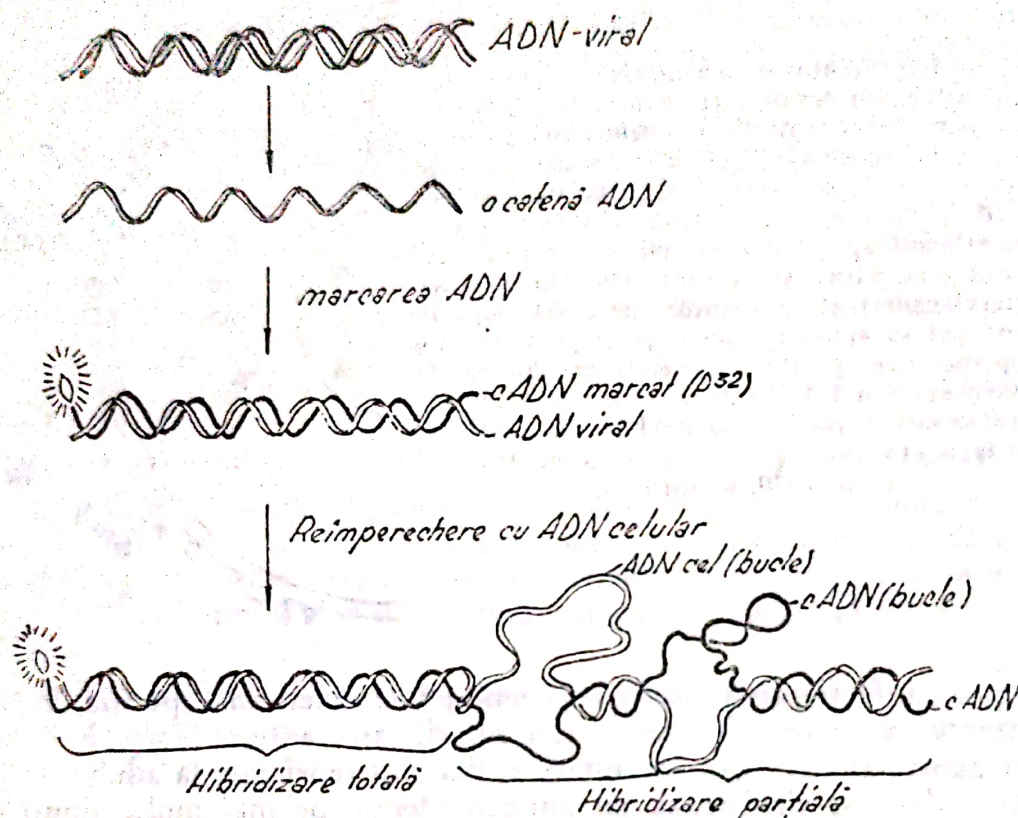


Fig. 11.2. — Reprezentarea schematică a metodei de decelare a genomului viral integrat în celulele transformate cu virusuri ADN. În prima etapă este sintetizată o copie de ADN viral marcată radioactiv (cADN). În a doua etapă cADN se reimperechează cu ADN al celulei. Apar 2 posibilități: (a) cei 2 ADN (cADN viral și ADN celular) sînt omologi (bazele sînt complementare) și se hibridizează total (Stinga); (b) cei 2 ADN nu sînt omologi sau prezintă doar unele zone de baze complementare, nu se realizează hibridizarea sau hibridizarea parțială, zonele formînd bucle (Dreapta).

cARN) și acizii nucleici din celulele tumorilor maligne (fig. 11.2). Proportia în care se formează acești hibridi (cADN-ARN din celulă, respectiv cADN-ADN celular, sau cARN-ADN celular) reflectă gradul de omologie dintre cei doi acizi nucleici. O hibridizare totală demonstrează, deci, originea virală a acidului nucleic extras din celula malignă (fig. 11.2).

Metodele de hibridizare pot decela deci prezența virusului oncogen „mascat” integrat în genomul celulei, cu condiția să aibă la dispoziție în prealabil virusurile oncogene umane (pentru a se putea sintetiza cARN sau cADN marcat). În lipsa virusurilor umane sînt folosite adesea virusuri animale, cu oncogenitate cunoscută, al căror material genetic poate însă să difere de cel al virusurilor umane.

11.1.4.2.

Decelarea revers-transcriptazei

(ADN-polimerază dependentă de ARN)

Evidențierea acestei enzime, un component propriu al oncornavirusurilor, demonstrează prezența acestor virusuri în celulele maligne neproducătoare de virioni*. Din nefericire, revers-transcriptaza poate fi confundată ușor cu alte ADN-polimeraze (alfa, beta, gamma), care sînt prezente în celulele normale. Cele mai sigure rezultate în diferențierea revers-transcriptazei oncornavirusurilor de ADN-polimerazele celulare au fost obținute cu ajutorul anticorpilor specifici anti-revers-transcriptază. S-a constatat astfel că celulele somatice umane normale, cu excepția spermei, nu conțin revers-transcriptază, așa cum s-a afirmat anterior (Penner și colab., 1971).

11.1.4.3.

Decelarea simultană a ARN 70 S și revers-transcriptazei

Decelarea simultană a ARN 70 S și revers-transcriptazei (testul de „decelare simultană” al lui Schlom și Spiegelman) este considerat ca cel mai sigur marker biochimic al prezenței oncornavirusurilor în tumorile maligne. Evidențiază concomitent ARN cu greutate moleculară mare (70 S) și enzima, ambele specifice oncornavirusurilor tip C și B.

11.1.5.

Transmiterea experimentală a tumorilor maligne prin virus

Așa cum am mai menționat, simpla demonstrare a prezenței virusului în tumorile maligne (prin teste imunologice, biochimice sau de microscopie electronică) nu este suficientă pentru incriminarea acestui virus în etiologia bolii. Argumentul suveran ar putea fi adus numai de demonstrarea capacității oncogene a virusului, de transmiterea cancerului prin virus. Testarea poate fi realizată *in vivo* sau *in vitro*.

11.1.5.1.

Transmiterea *in vivo*

Datele obținute din modele experimentale la animale au demonstrat că oncogenitatea virusurilor este în general restrînsă la o anumită specie animală, așa că eșecul încercărilor de transmitere a cancerului la animale prin intermediul virusurilor umane suspectate ca oncogene era previzibil (vezi capitolul de oncogeneză experimentală). Cele cîteva excepții pot fi atribuite mai curînd reactivării unor virusuri oncogene proprii ale acestor animale. În plus, faptul că unele virusuri sînt inofensive la gazda naturală (ca SV40), dar devin oncogene prin inocularea la alte specii, limitează și mai mult valoarea testelor *in vivo*.

* Revers-transcriptaza se găsește și la alte retroviridae care nu au proprietăți oncogene: virusurile *foamy* sau *spuma* prezente și la om, care sînt formatoare de sinciții și grupul visna / maedi, care dau leucoencefalită, respectiv pneumonie interstițială cronică la oi.

11.1.5.2.

Transmiterea in vitro

Transmiterea in vitro este realizată prin infectarea culturilor de celule umane (mai rar animale) cu virusurile suspectate a fi oncogene și urmărirea transformării acestor celule (vezi capitolul anterior). Transformarea celulelor *in vitro* nu este însă sinonimă cu cancerizarea *in vivo*, deși există date certe că transformarea reprezintă o condiție prealabilă pentru cancerizare. Chiar în cazul virusurilor bine stabilite ca oncogene, la animale, se știe că apariția cancerului este condiționată de factori celulari (în special genetici) și de condițiile, în special imunologice, ale organismului gazdă. Chiar în celulele transformate, influența factorilor genetici este extrem de importantă, hotărâtoare pentru menținerea malignității celulelor:

- susceptibilitatea crescută la transformare a celulelor cu anomalii citogenetice (de exemplu a fibroblastelor provenite de la bolnavi cu anemie Fanconi, sindrom Down, Turner sau Klinefelter);

- reversibilitatea transformării, în sensul că celulele transformate pot să redevină normale, deși continuă să mențină în genomul lor genomul virusului sub formă integrată (provirus);

- existența mutațiilor, dependente de temperatură, în funcția celulară, mutații care determină abolirea transformării fenotipice a celulelor, fără să influențeze genomul virusului;

- suprimarea transformării celulelor în urma fuziunii cu celulele normale, în pofida persistenței antigenelor virale și lipsa de oncogenitate a celulelor hibride după inocularea lor la animale.

Am arătat metodele de testare a capacității oncogene a virusurilor umane și limitele lor pentru a înțelege de ce este atât de greu să se afirme în prezent cu certitudine dacă există sau nu virusuri care induc cancere la om. Deși s-a depus o muncă imensă, deși lucrările apărute în acest domeniu sînt extrem de numeroase, afirmația că un anumit virus este oncogen pentru om rămîne încă hazardată. Putem afirma doar că unele virusuri întrunesc mai multe caractere care le aseamănă cu virusurile recunoscute deja ca oncogene la animale. În acest scop, testarea trebuie să se facă prin cît mai multe din metodele descrise anterior. În cazul în care un virus, sau genomul acestuia, prezent în cancerele umane (demonstrat prin metode imunologice și biochimice), determină transformarea celulelor umane etc., acest virus poate să intre în categoria virusurilor „candidate” la titlul, cîtuși de puțin onorabil, de virus oncogen uman.

Din toate virusurile oncogene (tabelele 10.IV și 10.V), candidate ca agenți etiologici ai cancerelor umane sînt numai virusurile herpes papiloma, al hepatitei și oncorna.

11.2.

Herpesvirusurile

Sînt virusuri cu ADN, mari, caracterizate prin tendința de a persista sub o formă latentă în anumite celule ale organismului și de a da boli recurente ca bine cunoscutele herpesuri labiale sau genitale. Virusurile, răspîndite larg în populația umană, dau infecția primară de obicei în copilărie și determină o boală acută, autolimitată. Această infecție primară provoacă distrugerea celulelor (citoliză), localizată (herpes simplu) sau sistemică (mononucleoza infec-

țioasă) clinic aparentă sau subclinică. După dispariția simptomelor clinice, virusul persistă adesea în organism, de-a lungul vieții întregi, sub o formă latentă, clinic inaparentă. Persistența infecției virale se realizează în prezența anticorpilor neutralizanți (antivirali) din circulație. Persistența virusului sub formă latentă determină recurența bolii în urma schimbării condițiilor interne, schimbare care antrenează după sine replicarea virusului, iar replicarea este acompaniată totdeauna de distrugerea celulelor.

Din membrii acestei familii sînt suspectați ca agenți etiologici ai unor forme de cancere umane virusurile: Epstein-Barr, Herpes simplex tip 2 și Cito-megalic.

11.2.1.

Virusul Epstein-Barr (EBV)*

Virusul Epstein-Barr a fost primul virus etichetat ca „virus tumoral uman” și a rămas cel mai serios candidat, existînd cele mai multe dovezi în favoarea implicării lui în etiologia limfomului Burkitt și a carcinomului rino-faringian.

11.2.1.1.

Limfomul Burkitt (LB)

Limfomul Burkitt (LB) a fost descris pentru prima oară de Denis Burkitt, în 1958, sub denumirea de sarcom al mandibulei, la copiii din Africa. Boala interesează cel mai frecvent unul sau ambele maxilare (nu e patognomonic), dar poate interesa și alte oase, sistemul nervos central, rinichiul și glandele suprarenale, ovarele, ganglionii mezenterici și paraaortici și rar ganglionii periferici. Tumorile au un aspect de limfosarcom și constituie cea mai frecventă malignitate a copiilor africani din zonele tropicale, calde și umede (Uganda). Frecvența maximă a tumorii este între 3—7 ani, mai rar sub 2 ani (1%), sau peste 15 ani (sub 5%). Inițial, datorită particularităților climatice și geografice ale răspîndirii bolii, Burkitt a presupus că boala este transmisă printr-un vector, probabil de țînțari. Ulterior, această ipoteză a fost respinsă chiar de autorul ei, dar ipoteza inițială a stîrnit cercetări în direcția evidențierii agentului transmisibil. Era perioada, plină de entuziasm, în care cercetătorii căutau febril noi virusuri oncogene. În limfomul Burkitt nu au putut fi evidențiate particule virale, dar Epstein reușește să cultive celule provenind din tumoare și în 1964, împreună cu Achong și Barr, pun în evidență în celulele cultivate un virus herpetic de un aspect particular. Fenomenul este confirmat și de alți autori și virusul începe să fie studiat în laboratorul soților Gertrude și Werner Henle. Întîmplător, căutîndu-se anticorpii față de aceste virusuri, se constată că un tehnician care lucra în acest laborator și care nu avea anticorpi (era deci seronegativ), devine seropozitiv (prezintă anticorpi) după o mononucleoză infecțioasă acută. Au urmat rapid studii retrospective, care au demonstrat că virusul Epstein-Barr este agentul etiologic al mononucleozei infecțioase, o boală limfo-proliferativă benignă descrisă de Damashek sub numele de leucemie autolimitată. S-a constatat apoi că virusul este foarte larg răspîndit, în toată lumea. Tumori morfologic similare limfomului Burkitt există și în alte țări

* În paranteză sînt consemnate prescurtările internaționale pentru fiecare virus.

cu climă temperată, în SUA, Europa, inclusiv România, (dar sporadic) sau cu climă caldă: în Papua, Noua Guinee și chiar în America de Sud. În ultimul deceniu s-au făcut eforturi imense pentru a se putea elucida rolul jucat de virusul Epstein-Barr în malignitățile umane. Există numeroase dovezi epidemiologice, biochimice, imunologice și de inducere a tumorilor care pledează pentru participarea acestui virus. Totuși, există probabil tot atâtea argumente care diminuează rolul virusului ca agent etiologic al cancerului în lipsa unor cofactori, care, fiecare luat în sine, este neesențial, dar prin intervenția lor conjugată probabil că determină apariția bolii maligne.

a) *Datele epidemiologice* sugerează că între infecția cu virusul Epstein-Barr (EBV) și limfomul Burkitt (LB) există o legătură, deoarece curbele de incidență maximă a tumorii se aseamănă cu cele ale infecției cu virus. În același sens pledează și studiile sero-epidemiologice. Datele ulterioare (O'Connor, 1970) demonstrează însă că curbele de frecvență a LB se aseamănă mai mult cu cele ale malariei (boală holoendemică în zonele de incidență maximă a LB) decât cu cele ale titrurilor maxime ale anticorpilor anti-EBV.

b) *Microscopia electronică* nu a evidențiat niciodată particule virale, EBV, în biopsiile de LB, dar a putut constata prezența virusului în liniile celulare provenite din acest limfom. Cultivarea *in vitro* este de obicei suficientă pentru a evidenția existența infecției cu EBV. Chiar în cazul liniilor celulare derivate din LB virus-negative (lipsite de virus) se poate induce producerea de virus prin tratarea lor *in vitro* cu pirimidine halogenate (5'-bromo- sau 5'-iododezoxiuridină), butirat de sodiu, phorbol-ester (un promotor tumoral), anticorpi anti-IgM, infectare cu un virus exogen sau prin hibridizare celulară (cu celule provenite de la om sau alte specii de animale).

Prezența EBV în biopsiile tumorale poate fi evidențiată însă prin metode imunologice sau biochimice.

c) *Metodele imunologice* au putut demonstra prezența EBV în LB prin evidențierea antigenelor virale sau induse viral cu ajutorul imunofluorescenței, reacțiilor de difuziune în gel, de fixare a complementului sau imunoenzimatice.

Infecția cu EBV determină apariția mai multor antigene:

— *EBNA* („Epstein-Barr virus-determined nuclear antigen” = antigen nuclear determinat de EBV) este o proteină care se leagă de cromozomii celulei infectate și joacă un rol important în transformarea și imortalizarea celulei (este similar antigenului T al virusurilor Papova și Adeno);

— *MA* (antigene ale membranei celulare induse viral) apar numai în infecțiile productive (în care se produce virus matur) și prezintă reacții încrucișate cu anvelopa virusului. Are mai multe componente antigenice deosebite: *EMA* (E-de la early) și *LMA* (L-de la late);

— *EA* („early antigene” — antigene timpurii) au fost descrise de soții Henle în infecțiile neproductive și abortive. Au două componente: *D* (difuz) și *R* (restrins);

— *VCA* („viral capsid antigen”) este un antigen structural, al capsidei virusului, ce apare în infecții productive;

— *LYDMA* („lymphocyte-detected membrane antigen”) este prezent în infecțiile neproductive și este recunoscut de limfocitele T citotoxice;

— *antigenul S* (solubil) sau *CFSA* (antigenul S fixator de complement) s-a constatat de curând că este identic cu *EBNA* (Ohno, 1977).

În toate biopsiile de limfom Burkitt al copiilor din Africa s-au putut evidenția EBV prin demonstrarea prezenței antigenelor EBNA, S și LYDMA, iar în majoritatea biopsiilor și MA. În liniile celulare provenite din LB pot fi prezente pe lângă aceste antigene și EA și VCA, caracteristice infecțiilor productive. În cazul liniilor celulare neproductive sinteza acestor antigene (EA, VCA) poate fi indusă prin tratarea cu inductori (pirimidine halogenate etc.), suprainfecție cu virusuri exogene sau hibridizare cu alte tipuri de celule.

În singele persoanelor infectate cu EBV, în formă clinic aparentă (mononucleoză infecțioasă) sau inaparentă, apar anticorpi anti diferitele antigene ale EBV, descrise anterior. Unii anticorpi dispar după o perioadă de timp de la însănătoșire, dar alții persistă toată viața.

Studiile sero-epidemiologice au arătat că bolnavii cu limfom Burkitt african au titruri crescute de anticorpi anti-EBV, comparativ cu copiii sănătoși de aceeași vîrstă. Titrurile mari interesează anticorpii anti-MA, anti-EA și mai ales anti-VCA (de 8—10 ori mai mari ca la sănătoși).

S-a constatat că urmărirea titrului unor anticorpi poate furniza indicații prognostice — scăderea anti-EA se observă la bolnavii care au o supraviețuire lungă sau sînt în perioada de remisiune a bolii*. Regresia tumorii este însoțită de scăderea titrului anticorpilor anti-EA (anti R), iar recurența de creșterea acestor titruri (anti-R și anti-D). La unele cazuri s-a constatat o creștere a titrului anti-MA, care precede cu cîteva luni recidiva tumorii. Copiii cu titruri mari anti-VCA au un risc crescut, făcînd de 29,1 ori mai frecvent boala decît cei cu titruri mici. (Studiile prospective ale Agenției Internaționale de Cercetări în Cancer-IARC.)

Deși aceste studii par să aducă *argumente în plus în favoarea etiologiei virotice a LB*, există și contraargumente tot atît de valabile:

— Prezența anticorpilor anti-EBV nu poate fi o dovadă a etiologiei virotice a LB, deoarece în zonele tropicale ale Africii (Uganda), unde incidența LB este maximă, majoritatea copiilor peste 2 ani au anticorpi anti-EBV (deci au suferit o infecție), dar numai o mică parte din ei fac limfom. De altfel, 90% din populația adultă a globului pămîntesc posedă anticorpi anti-EBV și cu toate acestea LB este o raritate în Europa și America.

— Titrurile înalte ale acestor anticorpi nu apar exclusiv la bolnavii cu limfom Burkitt. Ele au fost constatate și în leucemii și boala Hodgkin, deși în celulele maligne ale acestor bolnavi nu s-a putut evidenția EBV. Titruri foarte ridicate, comparabile cu cele din LB, au fost găsite și în afecțiuni nemaligne: lupus eritematos diseminat, sarcoidoză, lepră, hepatită, boli neurologice (sindrom Guillain-Barré, paralizia Bell, meningo-encefalită), unele amigdalite, în perioada acută a unor viroze (gripă, pojar, adenoviroze), sau la membrii de familie ai bolnavilor cu diverse forme de cancere: tiroidiene, sarcoame, feocromocitoame etc.

— Bolnavii cu limfom Burkitt din Europa și America, spre deosebire de cei din Africa, au titruri mici de anticorpi anti-EBV, similare cu cele ale mar-torilor sănătoși în două treimi din cazuri, sau nu au deloc anticorpi (în o treime din cazuri).

— Chiar bolnavii africani cu LB au titruri mari nu numai anti-EBV, ci și față de alte virusuri herpes: varicela, Zoster și CMV.

Din datele prezentate reiese clar cît este de dificil, în prezent, să se interpreteze datele sero-epidemiologice în favoarea etiologiei virotice a malignității umane.

(d) *Studiile biochimice* au demonstrat existența genomului virusului Epstein-Barr atît în biopsiile de LB african, cît și în liniile celulare derivate din acest limfom (prin procedee de hibridizare moleculară). S-au găsit 1—200 echivalente ale genomului viral per celulă (mai frecvent 20—50). Genomul viru-

* LB răspunde foarte bine la chimioterapie. Au fost observate regresii spontane chiar în lipsa unei terapii, sau regresii în urma unei simple biopsii a tumorii.

sului este prezent sub formă integrată în ADN al celulei și, parțial, sub formă de plasmidă liberă, circulară (legată covalent). Forma liberă este o particularitate care nu se mai întâlnește la nici un alt virus oncogen.

Spre deosebire de LB african, în LB din Europa și America precedeele de hibridizare cele mai sensibile nu au putut evidenția prezența genomului virusului Epstein-Barr. Datele biochimice și imunologice demonstrează deci că EBV nu poate fi suspectat ca agent etiologic decât în LB african. Chiar și în această localizare geografică, 75% din cazuri conțin și informația genetică a unui virus tumoral ARN, așa cum au demonstrat Spiegelman și colab. (1973) prin procedee de hibridizare moleculară și prin testul de decelare simultană a ARN 70 S — revers transcriptază. Acest oncornavirus, asemănător virusului leucemiei murine (R-MuLV) poate să joace și el un rol în etiologia tumorii.

(c) *Transmiterea experimentală.* *In vivo* inocularea EBV sau a celulelor care conțin genomul virusului poate induce formarea unor limfoproliferări maligne la unele specii de maimuțe din America de Sud (marmoset și maimuța bufniță). La alte specii (ca maimuța veveriță) producerea limfoamelor este condiționată de asocierea EBV cu malaria. Virusul Epstein-Barr este prezent atât în biopsiile, cât și în liniile celulare obținute în aceste limfoame de maimuță (tabelul 11.II).

TABELUL 11.II

FORMELE DE INFECTARE A CELULELOR CU HERPESVIRUSURI
(EPSTEIN, 1975).

- | | |
|-------------------------|---|
| (1) <i>Productivă</i> | — virusul se replică ducând la moartea celulei |
| (2) <i>Neproductivă</i> | — genomul virusului este prezent |
| (a) <i>Neexprimat</i> | — dar adesea activat spre un ciclu productiv |
| (b) <i>Exprimat</i> | — în transformarea malignă, dar poate fi activat spre un ciclu productiv. |

In vitro virusul Epstein-Barr poate să determine transformarea limfocitelor și fibroblastelor umane. Limfocitele umane au o durată de viață limitată, *in vitro*, dar prin infectarea lor cu EBV devin „nemuritoare”, se pot multiplica continuu în cultură, realizând astfel linii permanente de celule transformate. Virusul poate să transforme limfocitele B umane, care au receptori pentru EBV, și limfocitele de maimuță (marmoset). Aceste celule transformate conțin genomul viral sub formă integrată și de plasmidă. Linii celulare limfoblastoide (LCL) pot fi realizate prin infectarea *in vitro* cu EBV, dar pot fi izolate și din limfocitele din sângele bolnavilor cu mononucleoză infecțioasă (0,05% din limfocitele bolnavilor conțin genomul virusului EB), cu alte boli și de la persoanele sănătoase sero-pozitive (care au anticorpi anti-EBV). Indiferent dacă aceste linii celulare sînt sau nu productive (produc sau nu virus matur), ele conțin genomul virusului, demonstrabil prin teste de hibridizare și imunologice (antigene EBNA, S, LYDMA, EA, MA). Aceste linii celulare limfoblastoide diferă însă de liniile continue rezultate din cultivarea celulelor din limfomul Burkitt (linii de limfom), fiind heterogene din punct de vedere morfologic, funcțional și în privința proprietăților de creștere, spre deosebire de ultimele, care sînt omogene (tabelul 11.III).

Subliniem din nou faptul că transformarea celulară *in vitro* nu este sinonimă cu malignizarea *in vivo*. Astfel, transformarea *in vitro* a putut fi

TABELUL 11.III

**DEOSEBIRILE DINTRE LINIILE CELULARE LIMFOBLASTOIDE (LCL)
ȘI LINIILE CELULARE DERIVATE DIN LIMFOM BURKITT (LINII LB)**
(NILSSON, 1978).

Caractere	LCL	Linii LB	Studiat de:
Clonalitate Cariotip	Policlonal Normal diploid	Monoclonal Aneuploid Marker cromozomial 14	Becht și colab., 1974 Jarvis și colab., 1974 Zech și colab., 1976
Oncogenitate Glicoproteine de suprafață	— Gp 160, Gp 115	+ sau — Gp 210 Gp 87/85 Gp 71/69	Nilsson și colab., 1977 Gahmberg și colab., 1978 Nilsson și colab., 1977

realizată cu EBV provenit din mononucleoză infecțioasă, dar nu cu cel din limfom Burkitt. Invers, liniile celulare de limfom sînt tumorigene prin inocularea lor la șoareci nuzi (cu atimie congenitală), în timp ce liniile limfoblastoide nu sînt tumorigene (așa cum s-a crezut inițial) (Nilsson, 1977). Pentru a fi tumorigene, celulele transformate trebuie să prezinte pe lângă genomul virusului Epstein-Barr și o modificare genetică — o translocatie cromozomială la cromozomul 14 ($8q^-14q^+$). În plus, faptul că limfocitele umane lipsite de virusul EB (de la adulți normali sero-negativi pentru EBV sau din sângele cordonului ombilical) pot să inducă limfoame maligne prin implantare la hamster constituie un contraargument pentru rolul etiologic a EBV în malignitate (Miyoshi și colab., 1976).

11.2.1.2.

Carcinomul nazo-faringian

Carcinomul nazo-faringian este un carcinom cu celule scuamoase și infiltrație limfocitară, care apare cu o frecvență ridicată în estul Asiei și unele zone din Africa. Deoarece tumoarea are o incidență crescută în anumite grupuri etnice (sînt interesați în special bărbații de origine chineză), se crede că în malignizare joacă un rol important structura genetică a organismului. Datele care sugerează intervenția EBV în etiologia bolii sînt mult mai sărace decît în limfomul Burkitt, fiind furnizate mai ales de studiile sero-epidemiologice:

— majoritatea bolnavilor cu carcinom nazo-faringian au titruri mari de anticorpi anti-EBV. S-au găsit frecvent anticorpi de tip IgA anti-VCA în saliva acestor bolnavi și anticorpi neutralizanti în spălăturile faringiene;

— titrurile anticorpilor se corelează cu stadiul bolii și cu prognosticul ei (creșterea anticorpilor anti-VCA, EA-D și EBNA de la stadiul I la stadiul V, scăderea lor după o terapie eficientă și creșterea lor în recurența bolii, precedînd cu 1—2 luni această recurență);

— în culturile de celule provenite din carcinom rino-faringian prin tratare cu pirimidine halogenate au putut fi evidențiate particule virale și antigene virale (EBNA, EA, VCA). Se pare că tipurile de EBV izolate din diferite surse variază: astfel, unele tulpini nu mai pot provoca transformarea limfo-

* Vezi addendum.

citelor B normale. Celulele cultivate *in vitro* prezintă EBNA și alte antigene ale EBV;

— în biopsiile tumorale nu au putut fi evidențiate particule virale, dar sînt prezente antigene virale, în special EBNA. Prin studii de hibridizare s-a constatat că majoritatea acestor biopsii, indiferent de regiunea geografică din care provin, conțin genomul de EBV, în special dacă tumoarea are aspectul histo-patologic de „nediferențiată” (2 — peste 100 echivalente de genom viral per celulă).

Originea genomului de EBV nu se cunoaște. Se știe că virusul infectează numai limfocitele B umane cu receptori pentru acest virus și nu poate să infecteze celulele epiteliale. Totuși, genomul viral este prezent în celulele epiteliale ale tumorii și nu în limfocitele care infiltrează tumoarea. Infectarea celulelor epiteliale cu EBV a putut fi realizată numai prin hibridări, adică prin fuziuni celulare *in vitro*. Modalitatea prin care se face *in vivo* această infectare a celulelor epiteliale din carcinom este încă nelămurită.

În concluzie, virusul Epstein-Barr rămîne un candidat serios pentru etiologia unor malignități umane (LB și carcinom rino-faringian) datorită faptului că (Nilsson, 1978):

a) este prezent în toate biopsiile celulare din limfom Burkitt african *in vivo* și *in vitro* și din carcinom rino-faringian anaplastic *in vivo* (sub formă de ADN și antigene virale);

b) determină o transformare permanentă („imortalizare”) a limfocitelor umane și de maimuță *in vitro*;

c) induce o limfo-proliferare malignă fatală prin injectarea lui la mai multe specii de maimuțe.

Ipoteza că EBV este un virus „pasager”, că este „cules” de celulele maligne datorită faptului că acestea constituie un mediu favorabil pentru virus, deci că este consecința, și nu cauza malignizării este contrazisă de unele observații:

— limfoamele non-Burkitt, frecvente în Europa și America, deși se dezvoltă la persoanele sero-pozitive nu culeg virusul, care este prezent în organismul lor, deși celulele acestor limfoame pot fi infectate *in vitro* cu EBV;

— virusul Epstein-Barr este asemănător cu alte herpes-virusuri binecunoscute ca oncogene la animale și recunoscute ca agenți etiologici ai: bolii Marek la găina, carcinomul renal Lucké al broaștei leopard, limfomului Hinz la iepuri, limfoamelor maimuțelor (herpesvirusul Saimiri și Ateles și herpesvirusul Papio similar virusului EB al primatelor neantropoide: babuin, cimpanzeu și urangutan).

Totuși, simpla infectare cu EBV nu este suficientă pentru a induce malignizarea, deoarece 90% din populația globului se infectează, iar procentul cancerizării este foarte mic. Din acest motiv, se crede că pentru transformarea oncogenă sînt necesari în plus și alte condiții sau cofactori, ca:

a) cofactori genetici: se crede că transformarea malignă prin EBV are loc numai dacă există deficite genetice ale mecanismelor reglatoare. Astfel de deficit ar putea fi translocăția cromozomială din cromozomul 14 descrisă în LB, sau o anumită structură a antigenelor de histocompatibilitate — HLA — descrisă în carcinomul rino-faringian (Antigen A₂ și BW₄₆);

b) cofactori imunologici; cancerizarea s-ar face numai prin infectarea timpurie, în primii ani de viață, în condițiile în care imunocompetența orga-

nismului este deficitară, așa cum se întâmplă la copiii din regiuni cu niveluri social-economice scăzute. O altă posibilitate ar fi infecția intrauterină, în prezența anticorpilor anti-EBV de la mamă, care de asemenea s-a dovedit, experimental, oncogenă;

c) infecția cronică cu agentul malariei poate să creeze condițiile necesare pentru malignizarea *in vivo*. Această infecție duce la o stimulare cronică, cu perturbarea echilibrului dintre diferitele compartimente ale răspunsului imunologic. În aceste condiții, modificate, virusul Epstein-Barr poate să inducă o „fixare” permanentă a celulelor imunologic reactive în starea blastică, fixare ce conduce ulterior la transformarea malignă;

d) asocierea cu o infecție cu oncornavirusuri tip C. Un fenomen similar a fost constatat în neuro-limfomatoza găinilor (boala Marek), dată tot de un herpesvirus, a cărui acțiune oncogenă este potențată de un oncornavirus tip C (virusul leucemoid aviar).

Existența unor cofactori nu numai că va complica posibilitatea prevenirii bolii prin vaccinare, dar ridică chiar problema oportunității introducerii virusului (prin vaccinare) într-o populație cu risc crescut pentru boala malignă.

11.2.2.

Herpesvirusurile Simplex tip 1 și 2

Virusurile herpes simplex pot fi împărțite în 2 grupe diferite: herpesvirusurile simplex tip 1 (HSV-1) care dau herpesuri extragenitale, orale, labiale și herpesvirusurile simplex tip 2 (HSV-2), care dau herpesurile genitale. Ambele boli sînt recurente. Virusul persistă în organism sub o formă latentă, în ganglionii nervoși senzitivi și determină periodic manifestările clinice bine cunoscute, citopatogene, ale bolii.

Studiile epidemiologice au remarcat inițial o legătură între relațiile sexuale și riscul crescut al cancerului colului uterin, sugerînd posibilitatea transmiterii venerice a unui agent infecțios. Ulterior, s-a presupus că acest agent este herpesvirusul simplex tip-2. Infecțiile cu acest virus sînt larg răspîndite, în special la populația cu condiții social-economice scăzute (între-sează 70% din populație) sau în condiții de promiscuitate sexuală. Argumentele în favoarea rolului acestui virus în inducerea cancerului de col uterin sînt însă mai sărace decît cele pentru virusul Epstein-Barr.

Sero-epidemiologic s-a constatat incidența crescută a anticorpilor anti-HSV-2 în această formă de cancer, comparativ cu femeile sănătoase. S-a demonstrat de asemenea că femeile cu herpes genital au o incidență crescută a leziunilor anaplazice ale colului.

Din culturile de celule provenite din cancerele de col uterin au fost izolate particule virale. În biopsiile tumorale s-au putut evidenția și oncornavirusuri tip C, iar prezența HSV-2 se poate datora și unei infecții latente, fără legătură cu cancerul.

Studiile imunologice au arătat că celulele anaplazice exfoliate ale bolnavelor cu tumori au antigene virale, dar aceleași antigene au fost găsite și în celulele femeilor normale. În plus, în biopsiile tumorale nu au putut fi puse în evidență aceste antigene, ceea ce sugerează că celulele captează virusul din tractul genital, locul habitatului natural al virusului, înainte de exfoliere. Aurelian și colab. (1975) au descris un antigen tumoral specific indus de

HSV-2 denumit AG-4 (sau antigen non-virion sau non-virion asociat cu tumoarea NVA-TAA), care apare la 4 ore în culturile de carcinom epidermoid uman infectate cu HSV-2. S-a constatat prezența acestui antigen în biopsiile de cancer de col, dar încă nu se știe dacă acest antigen este sintetizat de informația HSV-1 și / sau HSV-2, sau de informația genomului celulei.

Unii autori au arătat că bolnavele cu cancer genital prezintă o incidență mai mare a anticorpilor față de HSV-2 comparativ cu femeile martore, dar alții au constatat că numai sub 50% din bolnave au anticorpi față de antigenele precoce ale virusului. Pe de altă parte, numai o mică parte din bolnavele cu metastaze generalizate au anticorpi față de antigenele de suprafață ale HSV.

Anticorpi anti-AG-4 au fost găsiți la 68% din bolnavele cu carcinom *in situ* și 91% din cele cu cancer invaziv, comparativ cu 10% din martorele sănătoase și 35% din bolnavele cu displazie cervicală. Acești anticorpi dispar după un tratament eficient și sînt prezenți la bolnavele cu recidive tumorale. Spre deosebire de aceste date obținute în S.U.A., în Japonia anticorpii AG-4 sînt prezenți la mai puțin de jumătate din femeile cu cancer de col uterin. În plus, bolnavele cu carcinoame cu celule nescuamoase ale vulvei, amigdalelor, limbii, palatului, laringelui etc. prezintă de asemenea anticorpi anti-NVA-TAA și / sau anti-AG-4.

Studiile biochimice nu au constatat prezența genomului viral în celulele tumorale, cu excepția unei singure biopsii în care s-au găsit fragmente de ADN de HSV-2 prin procedee de hibridizare (Frenkel și colab., 1972). S-a constatat că HSV-2 conține o enzimă, o timidinkinază particulară, dar nici această enzimă nu a fost găsită în celulele maligne, deși este prezentă în serul unora din bolnavele cu cancer de col.

Proprietățile oncogene ale HSV-2 au fost demonstrate la șoareci. Introducerea unor tampoane vaginale înmuiate în soluții ce conțineau HSV-2, au dus la leziuni cervicale preinvazive la 77% din animale și la adenocarcinoame invazive la 30% (experiențele de acest gen la maimuțe au eșuat). Originea virală a cancerului rămîne însă să fie dovedită prin demonstrarea antigenelor și acizilor nucleici virali în aceste tumori, care pînă acum nu au putut fi decelați. *In vitro* s-a demonstrat că unele tulpini de HSV-1 și HSV-2, dar în nici un caz toate, pot să transforme fibroblaste și celule epitelioidale normale umane, de hamster, șoarece sau șobolan, în cazul în care acțiunea citolitică a acestor virusuri este prevenită (prin iradiere cu ultraviolete sau căldură de 42°C). Celulele transformate pot să conțină continuu sau numai tranzitoriu, fragmente de genom viral și antigene virale (deși nu au fost demonstrate antigene nucleare similare cu EBNA al EBV). Inoculate la hamsterii nou-născuți, aceste celule induc formarea unor tumori maligne (liniile de fibroblaste transformate induc sarcoame, iar cele epitelioidale — adenocarcinoame). Celulele tumorilor induse conțin o parte din genomul virusurilor transformante, iar animalele cu tumori prezintă anticorpi neutralizanti față de virus.

Dar încercările de transformare *in vitro* a celulelor normale de col uterin au eșuat. Se pare că aceste celule, care pot foarte ușor să sufere o infecție citolitică, sînt rezistente la transformare.

Aprecierea exactă a rolului HSV-1 și HSV-2 în oncogeneza umană este încă în studiu (tabelul 11.IV). S-ar putea ca și în cazul acestor virusuri, prezența unor cofactori să aibă un rol important în declanșarea bolii, deși nu

este exclus ca tocmai aceste virusuri să acționeze în chip de cofactori, întrucât s-a sugerat recent și existența unei asocieri cu un oncornavirus endogen în apariția bolii sau cu virusul polioma (HPV).*

TABELUL 11.IV

DOVEZILE LEGĂTURII DINTRE HERPESVIRUSURI ȘI CANCERE UMANE
(HENLE ȘI HENLE, 1978).

	HSV-1 celule scuamoase	HSV-2 col uterin	EBV-rinofaringian
1. Evidențierea acizilor nucleici, antigenelor sau particulelor virale în biopsii sau culturile de celule derivate din ele	—	—	+
2. Inducerea de carcinoame la animale de experiență	—	?	—
3. Transformarea celulelor epiteliale <i>in vitro</i>	+	+	—
4. Depistarea în singele bolnavilor a anticorpilor antivirali	?	?	+

+ sigur;
— negativ;
? sugerat sau neconfirmat.

11.2.3.

Virusul citomegalic (CMV)

Este suspectat în etiologia *sarcomului Kaposi*. Sarcomul este mai frecvent în anumite zone din Africa Centrală și se caracterizează prin apariția unor hemangioame multiple, pigmentate pe piele. Datele sero-epidemiologice arată prezența anticorpilor anti-CMV la bolnavii cu sarcom Kaposi.*

Virusul a putut fi izolat din culturile celulare realizate din tumoarea unui bolnav. S-a demonstrat că CMV uman transformă celulele umane și de hamster *in vitro*, iar celulele transformate conțin antigene virale. Cu cât gradul de exprimare a acestor antigene este mai mic, cu atât gradul de malignitate *in vivo* a acestor celule este mai mare (la șoarecii nuzi). Antigenele virale au putut fi puse în evidență în celulele canceroase umane. Antigene înrudite cu cele ale CMV sînt prezente și în unele linii celulare provenite din *cancerul de prostată uman*. S-a constatat de asemenea că bolnavii cu cancer de prostată prezintă o creștere a imunității umorale și celulare față de celulele transformate *in vitro* cu CMV.

Trebuie să menționăm că virusurile herpetice mai sînt considerate că ar avea un rol etiologic și în alte forme de cancer. Dovezile aduse sînt însă indirecte și mai puțin concludente.

11.3.

Oncornavirusurile

11.3.1.

Oncornavirusurile tip C

Oncornavirusurile tip C au fost găsite în numeroase leucemii și sarcoame la diverse specii animale: păsări, șoareci, pisici, bovine, maimuțe etc. și rolul lor în etiologia acestor boli a fost bine documentat. La om însă, în pofida

* Vezi addendum.

studiilor extensive efectuate în numeroase laboratoare, rolul lor nu este încă suficient elucidat.

Studiile epidemiologice nu au putut să demonstreze existența unei *transmiteri orizontale* a leucemiilor și limfoamelor umane, deci a contagiozității acestora, așa cum a fost demonstrat deja în cazul leucemiilor de la galinacee, rozătoare sălbatice, bovine, feline și la unele maimuțe (maimuțele linoase și gibbonii din captivitate). Există studii care semnalează apariția unor cazuri în mod „grupat” în anumite colectivități, ca de exemplu cele 8 cazuri de leucemie semnalate între 1957—1960 în aceeași școală din orașul Nils (o suburbie a orașului Chicago) cu o populație de 20 000 locuitori (deci o incidență de 20 de ori mai mare decât în restul populației țării). Existența acestor grupări de îmbolnăviri ar putea sugera posibilitatea unei transmiteri orizontale. Alte studii, mai aprofundate, infirmă însă acest mod de transmitere. Rezultatele unor astfel de anchete epidemiologice sînt greu de interpretat. Chiar dacă presupunem existența unui factor contagios, cum se explică faptul că acesta nu a mai determinat apariția unor îmbolnăviri în anii următori? S-au găsit anticorpi specifici în sîngele periferic la o treime din membrii de familie ai acestor 8 copii bolnavi, precum și la personalul medical din spitalul în care au fost tratați, dar la copiii bolnavi testele au fost negative. În plus, nu s-a putut stabili dacă aceștia au venit în contact anterior îmbolnăvirii sau, așa cum s-a întîmplat în cazul majorității „grupărilor” descrise în literatură, s-au cunoscut și s-au împrietenit în clinica unde au fost tratați. În plus, studiile efectuate mai ales înainte de 1970, nu țin seamă de factorii ereditari. Se știe că în unele anomalii citogenetice și instabilității cromozomiale (sindrom Down, Bloom, pancitopenia Falconi) incidența leucemiilor acute este mult mai mare decât la restul populației. Limfoamele hodgkiniene și nehodgkiniene apar mai frecvent la persoanele cu imunodeficiențe moștenite autosomal recesiv, ca sindromul Wiskott-Aldrich sau ataxia-teleangiectazică. În multe cazuri, publicarea unor astfel de „aglomerări” de cazuri de îmbolnăvire nu a adus nici un aport în elucidarea posibilității unei transmiteri orizontale, dar au avut un efect nedorit asupra bolnavilor, care, citind în presă asemenea „studii științifice”, s-au claustrat sau chiar s-au sinucis în dorința de a nu transmite boala familiei sau prietenilor.

Unii autori au sugerat că leucemiile se pot *transmite vertical* de la părinți la copii, similar cu fenomenul observat în leucemiile galinaceelor (prin ou) și bovinelor (prin spermă, transplacentar și prin lapte), bazîndu-se pe observația că în cazul gemenilor monoziгоți dacă unul din copii face leucemie în primul an de viață, în 100% a cazurilor face și al doilea. S-a văzut însă că incidența leucemiilor este mult mai mică în cazul gemenilor dizigoți. Chiar la gemenii monoziгоți incidența bolii scade după primul an de viață, intrînd în limitele normale după 6 ani. De asemenea, nu s-a constatat o frecvență mai mare a bolii la copiii proveniți din mamele leucemice sau alăptați de acestea. La om nu a fost dovedită contagiozitatea leucemiilor animale (feline sau bovine), deoarece incidența bolii nu este mai mare la fermieri, zootehniști, veterinari sau personalul laboratoarelor care lucrează cu virusuri ale leucemiilor aviare, feline, bovine sau de maimuță.

De asemenea, nu a fost confirmată nici existența unei legături între apariția leucemiilor și limfoamelor la copii și infecțiile virotice (gripă, varicelă) din timpul gravidității mamei.

Posibilitatea etiologiei virotice a leucemiilor și limfoamelor umane se bazează pe evidențierea în celulele malignizate (proaspete sau cultivate) a particulelor virale, a revers-transcriptazei și a acizilor nucleici de proveniență virală în genomul celulei.

Încă în 1965, Dmochowski și colab. (de la Institutul de tumori din Houston-Texas) a decelat, cu ajutorul microscopului electronic, prezența particulelor similare oncornavirusurilor în celulele și plasma unor bolnavi cu leucemii și tumori solide: limfom Hodgkin, limfosarcom sau sarcom. Ulterior, prezența acestor particule virale a fost confirmată și de alte laboratoare. A fost necesară o muncă uriașă pentru a se putea demonstra că aceste particule, asemănătoare virusurilor ARN tumorale, sînt de fapt oncornavirusuri și nu simple componente ale celulei. Chiar și după ce a fost demonstrată originea virală a acestor particule, semnificația prezenței lor este încă neelucidată, deoarece și liniile celulare umane embrionare normale (diploide) pot să elibereze spontan particule similare oncornavirusurilor tip C. În plus, s-a constatat prezența oncornavirusurilor în placentele umane normale, la termen.

Pentru elucidarea semnificației acestor particule s-au făcut eforturi de izolare, purificare și caracterizare a oncornavirusurilor tip C din malignitățile umane. S-a constatat că primele 2 virusuri izolate (ESP-1 și RD-114) nu sînt de proveniență umană; primul este un virus leucemiant de șoarece (MuLV — murine leukemia virus), iar al doilea un virus endogen, nepatogen, de pisică. Abia în 1975, doi cercetători de la Institutul Național de Cancer din Bethesda (SUA) au reușit să izoleze un virus ARN uman, în mod repetat, din leucocitele și măduva oaselor de la un bolnav cu leucemie mieloidă, virus pe care l-au denumit, de la numele bolnavului, HL23V. Doi ani mai târziu, Kaplan și colab. (1977) au izolat din celulele din culturi de scurtă durată ale unui limfom uman un al doilea oncornavirus tip C. Pînă în prezent numai aceste două virusuri s-au dovedit a fi de origine umană și ele sînt studiate intens în mai multe laboratoare.

Un puternic impuls în cercetarea etiologiei virotice a leucemiilor umane a fost dat de izolarea unor oncornavirusuri tip C de la maimuțe, animalele cele mai apropiate filogenetic de om. Cele trei virusuri ARN de la primat sînt:

— virusul sarcomului Simian (SiSV), izolat de Theilen dintr-un fibrosarcom al maimuței lînoase;

— virusul leucemiei gibbonului (GA-LV) („Gibbon Ape Leukemia Virus“) obținut de Kawakami din celulele leucemice de gibbon;

— virusul endogen de babuin (BaEV), identificat de Kalter în placenta maimuțelor și ulterior izolat și caracterizat de Benveniste și Todaro.

Primele două virusuri sînt exogene și patogene (SiSV induce sarcoame și transformă *in vitro* celulele; GA-LV induce leucemie mieloidă, dar nu transformă), iar ultimul este endogen și nepatogen (nu induce malignități și e netransformant).

Descoperirea acestor virusuri are o dublă importanță: în primul rînd demonstrează că și la maimuțe, animalele cele mai înrudite cu omul, sarcoamele și leucemiile pot avea origine virală, iar în al doilea rînd, virusurile maimuțelor constituie un material mult mai propice pentru căutarea informației virale în genomul celulelor maligne umane (prin teste de hibridizare)*.

* Testele de hibridizare moleculară a acizilor nucleici ai oncornavirusurilor au demonstrat că nu există omologii între acizii nucleici ai oncornavirusurilor unor specii îndepărtate, de exemplu murine și aviare.

S-au făcut studii laborioase în multe laboratoare de virusologie cu aceste oncornavirusuri de maimuțe. În esență, s-a constatat că:

(a) Particulele intracelulare similare cu virusurile, constatate la microscopia electronică, au caractere ale oncornavirusurilor și anume: conțin transcriptază inversă, au un ARN 70 S, folosit de enzimă (revers-transcriptază) ca matrită pentru sinteza unui ADN, acidul nucleic din aceste particule prezintă omologii importante cu SiSV și parțiale cu MuLV (virusul leucemiei murine) sau cu BaEV, așa cum reiese din procedeele de hibridizare (tabelul 11.V.). Particule cu caractere ale oncornavirusurilor tip C au fost decelate în celulele leucemice din singe, în splină și în culturile de celule din măduva oaselor a bolnavilor cu leucemii.

(b) Celulele leucemice umane cultivate *in vitro*, în culturi de scurtă sau lungă durată, eliberează frecvent particule cu aspectul și proprietățile oncornavirusurilor tip C. Acidul nucleic din aceste particule prezintă de asemenea omologii cu SiSV și BaEV (tabelul 11.V.).

TABELUL 11.V

**PARTICULE ASEMĂNĂTOARE VIRUSURILOR (VIRUS-LIKE)
ȘI VIRUSURILE DIN LEUCEMIILE (L) UMANE (GALLO ȘI MEYSKENS, 1978)**

LUCRAREA	STATUSUL	Înrudire cu alte virusuri	Autorul
A) Eliberarea trecătoare a particulelor virus-like din culturi de scurtă durată a celulelor sangvine sau din măduva oaselor			
1. În L. limfatică acută și cronică	Eliberare mică, nu pot fi propagate Test simultan	ND	Kolter și colab., 1972
2. Măduva oaselor de la leucemici: — netratați (17) — tratați (12)	Eliberare de particule cu ARN 70 S pozitiv 17/17 pozitiv 6/12 Test simultan	40—60% SiSV 20—40% MuLV (prin hibridizare)	Mak și colab., 1974, 1975
3. Preleucemie (măduva oaselor)	Test simultan	ND	Voiska și colab., 1975
4. Culturi de linii limfoide (3) (13 cazuri)	1/3 eliberează particule	ND	Klucis și colab., 1976
5. Leucocite din singe, leucemie mieloidă acută și cronică	Particule cu densitate de 1,17 g/ml cu ARN 70 S	ND	Meyskens și colab., 1978
B) Eliberare de virus infecțios (transformant) din liniile celulare cultivate in vitro			
1. Celule din singe sau măduvă în leucemie limfatică acută	Transmise prin cocultivare, dar pierdute	SiSV (imunologic)	Nooter și colab., 1975
2. Adenocarcinom + plămîn din leucemie limfatică cronică	Prin cocultivare particule tip C care înmuguresc	SiSV (imunologic + hibridizare)	Gabelman și colab., 1975
3. Carcinom gastric metastatic	Test simultan pozitiv transformă fibroblastele	ND	Balabanova și colab., 1975
4. Măduvă de L. limfatică acută (2 cazuri)	Cocultivare particule cu RT	SiSV	Nooter și Bentvelzen 1978, 1979
5. Fibroblaste embrionare normale	După multe treceri virus. La început pozitive pt. antigene virale	SiSV, BaEV	Panem și colab., 1975—1978
C) Eliberare de virus infecțios (transformant) din celule primare în cultură scurtă			
1. L. mieloidă acută (leucocite proaspete): virusul HL 23V (sangvine și măduvă)	Particule citoplasmastice, eliberare prin cocultivare	SiSV, BaEV	Gallagher și Gallo, 1975—1978
2. Lîmfom		SiSV	Kaplan și colab., 1977

ND = nedeterminat; RT = revers-transcriptază. Test simultan = decelare simultană a ARN 70 S și revers-transcriptazel.

(c) S-a constatat prezența transcriptazei inverse (revers-transcriptaza) în leucocitele din singele periferic, în celulele măduvei oaselor, splinei și în plasma unor bolnavi de leucemie. Această enzimă este considerată ca fiind un marker indicator al prezenței oncornavirusurilor în celule, mai precis al informației virale, chiar în lipsa producerii de particule virale (infecții neproductive sau abortive). Revers-transcriptaza nu a fost decelată în leucocitele umane normale, însă este prezentă în unele celule ale leucemicilor, indiferent dacă bolnavii este într-o fază de remisiune clinică, hematologică sau în perioade de recidivă. Imunologic, enzima este înrudită cu cea a oncornavirusurilor maimuțelor, SiSV/GALV, uneori cu BaEV și este parțial înrudită cu cea a virusului leucemiei murine, tulpina Rauscher (R-MuLV). Revers-transcriptaza nu este însă prezentă în toate formele de leucemii, ea a fost decelată numai la aproximativ 20–30% din bolnavii cu leucemie mieloidă acută sau cronică în criză blastică (acutizată). În plus, prezența enzimei a fost semnalată în policitemia vera (în trombocite și măduva oaselor) și în culturile de leucocite provenite de la bolnavi cu mielom multiplu.

(d) Celulele din unele leucemii, sarcoame și limfoame conțin în genomul lor informația provenită de la oncornavirusuri, sub formă de provirus. Existența provirusului a fost demonstrată prin teste de hibridizare între ADN al celulelor și ARN al oncornavirusurilor cunoscute. Hibridizarea este mai eficientă cu BaEV și R-MuLV și mai rar cu SiSV. Este însă greu de afirmat că infecția cu virus, deci provirusul din genomul celulei, duce la malignizarea ei, deoarece aproape toate celulele umane normale testate pînă în prezent prezintă secvențe de ADN înrudite cu BaEV. Se pare că există o genă pe cromozomul 6 (BeVI) pe care se integrează BaEV sub formă de provirus, în genomul uman. Unii autori susțin însă că secvențele de acizi nucleici ai BaEV din celulele normale sînt diferite de secvențele prezente în celulele leucemice.

Studiile imunologice au furnizat rezultate mai puțin concludente. După o primă etapă de entuziasm, cînd au fost decelate antigene similare cu cele ale virusurilor leucemiilor murine sau ale oncornavirusurilor maimuțelor, în serul sau celulele unor bolnavi cu leucemie, a urmat etapa de descurajare, deoarece aceste antigene există și la persoanele sănătoase. În 1974 Scherr și Todaro constată de exemplu prezența antigenului p 30 al virusurilor SiSV/GALV la 5 din 7 bolnavi cu leucemie mieloidă, dar doi ani mai tîrziu, utilizînd antigene mai purificate, Spiegelman și colab. nu-l găsesc la nici unul din cei 12 bolnavi testați. S-a semnalat prezența antigenului gp 69/71 al SiSV/GALV în membranele celulelor leucemice umane, dar ulterior s-a constatat că antigene înrudite cu acestea sînt larg răspîndite chiar la oamenii sănătoși.

O situație similară se remarcă în privința anticorpilor, anti-antigene de oncornavirusuri, din serul bolnavilor leucemici. S-a constatat prezența anticorpilor anti-MuLV (tulpina Gross) la 50% din leucemici, dar studiile ulterioare au arătat că ei există la 20% din femeile gravide, la 20% din bolnavii cu boală Hodgkin și la 10% din oamenii normali. O situație foarte asemănătoare a fost furnizată de testările de anticorpi anti-oncornavirusuri de maimuțe. În plus, trebuie să amintim faptul că bolnavii cu leucemie sau limfoame au frecvent titruri înalte de anticorpi față de virusuri care nu pot fi implicate în etiologia bolii, ca virusul citomegalic, Mason-Pfizer, Epstein-Barr etc. și invers, 75% din serurile persoanelor sănătoase conțin anticorpi naturali față de celulele infectate cu oncornavirusuri simiene (Aoki, 1976).

(e) S-a constatat că virusul izolat în mod repetat de la un bolnav cu leucemie mieloidă HL23V este oncogen pentru unele maimuțe americane — marmoset (*Saguinus*) și induce transformarea celulelor normale umane și animale.

În concluzie, pînă în prezent singurul „candidat” pentru oncornavirus tip C uman rămîne HL23V izolat de Gallagher și Galle. El a fost destul de bine analizat și prezintă caracterele oncornavirusurilor în privința *particulelor virale* (diametru, constantă de sedimentare, sedimentare în gradient de densitate), este generat de celulă infectată (înmuguresc din celulă, formează hibridi ADN-ARN), conține *revers-transcriptază* (testul de decelare simultană este pozitiv, enzima este imunologic înrudită cu SiSV/GALV), iar genomul virusului este ARN cu greutate moleculară mare (ARN 70 S), înrudit cu cel al oncornavirusurilor animale cunoscute (SiSV, BaEV și MuLV).

Chiar dacă informația virusului tip C există în sarcoamele și leucemiile umane, rămîn însă neelucidate unele aspecte:

— particulele virale sînt cauza sau efectul bolii? Ele reprezintă, de fapt, un oncornavirus imatur al celulei malignizate sau sînt produse de alte țesuturi, fiind pur și simplu culese sau fagocitate de acestea?

— informația provirală este legată sau nu etiologic în generarea stării maligne? Dacă da, prin ce mecanism apare boala?

Amintim că particule similare oncornavirusurilor tip C au fost decelate în multe alte malignități umane:

— în unele metastaze ganglionare de melanoame și în culturile de celule de melanom;

— în câteva biopsii de carcinom de prostată și în celulele metastazelor de tumori testiculare cultivate *in vitro*;

— în unele tumori renale, ale ureterului sau vezicii urinare și urina bolnavilor cu tumori maligne genito-urinare (uretră, vezică, prostată);

— în tumori gastro-intestinale, pulmonare, hipofizare au fost de asemenea evidențiate particule tip C, care conțineau revers-transcriptază și ARN 70 S;

— în tumori cerebrale (particule care conțin ARN 70 S și transcriptază inversă);

— în limfom Burkitt și alte limfoame, carcinom rino-faringian, în splina bolnavilor cu boală Hodgkin, în osteosarcoame, rabdomiosarcoame, carcinoame mamare sau cancere de col uterin.

Prezența virusurilor tip C din unele din localizările menționate nu a fost confirmată de alte laboratoare. În plus, observațiile la microscopia electronică trebuie să fie confirmate, în unele localizări, de cele biochimice (ARN 70 S, revers-transcriptază etc.). În final, rămâne de demonstrat rolul acestor oncornavirusuri tip C în etiologia bolilor maligne în care au fost constatate.*

11.3.2.

Oncornavirusurile tip B (D?)

Oncornavirusurile tip B au fost incriminate în etiologia cancerului mamar uman după descoperirea originii virale a acestei tumori la șoareci de Bittner, în 1936. Autorul a constatat că incidența crescută a adenocarcinomului mamar la unele linii de șoareci se datorează prezenței în laptele mamelor a unui „factor de lapte”. Ulterior s-a constatat că factorul de lapte este de fapt un virus denumit inițial de Bernhard, pe baza criteriilor morfologice, „particulă tip B”, ulterior oncornavirus sau virus tip B, al cărui prototip este virusul carcinomului mamar de șoarece: MMTV („mouse mammary tumour virus”) sau MuMTV („murine mammary tumour virus”). În 1970, suspiciunea originii virotice a cancerului mamar uman este întărită de izolarea de către Chopra și Mason a unui oncornavirus dintr-un carcinom mamar spontan de maimuță Rhesus. Virusul denumit Mason-Pfizer, MPMV („Mason-Pfizer monkey virus”) are proprietăți similare cu cele ale oncornavirusurilor tip B și C, dar este morfologic și imunologic distinct și aparține unui alt gen, oncornavirus tip D.

Rolul etiologic al oncornavirusurilor în cancerul mamar uman, deși este suspectat de peste 10 ani, nu este încă dovedit. Cercetările extensive de microscopie electronică, biochimice și imunologice au condus la rezultate neconcludente, adesea discordante.

Primele date în sprijinul ipotezei virotice a cancerului mamar au fost aduse de microscopia electronică. Au fost decelate particule similare virusurilor tip B și C în tumorile mamare și în laptele provenit de la femei cu

* Vezi addendum.

un risc crescut de a face cancer mamar. Femeile cu risc crescut au fost femeile parse din India* și femeile cu antecedente eredo-colaterale pozitive (mama, bunica, surori sau mătuși din partea mamei, cu cancer de sân). În primele studii publicate au fost decelate particule similare virusurilor tip B și/sau C la 60% din femeile cu antecedente eredo-colaterale pozitive, la 39% din femeile parse și numai la 5% din femeile martore, fără antecedente familiale de cancer. Natura virală a acestor particule nu a fost însă universal acceptată, deoarece s-a constatat că multe din ele nu sînt de fapt decît detritusuri celulare. Spre deosebire de liniile de șoareci cu incidență mare a cancerului mamar, care au aproximativ 10^{10} — 10^{12} particule/ml lapte (un trilion — un milion de milioane — de particule per centimetru cub de lapte), în laptele uman există doar 10^6 particule/ml (un milion de particule), ceea ce reprezintă valoarea limită la care pot fi decelate la microscop. Ulterior, au fost dezvoltate metode de concentrare a particulelor similare virusurilor B și C din laptele uman și s-a constatat că numai 16% din eșantioanele de lapte conțin particule similare virusurilor B intacte. La sfîrșitul anului 1972, cu ocazia conferinței asupra biologiei moleculare a laptelui uman, la care au participat 12 laboratoare care studiau problema originii virale a acestei malignități, s-a ajuns la următoarele concluzii:

— Laptele uman conține particule asemănătoare oncornavirusurilor tip C, B sau neclasificate. În majoritatea cazurilor, aceste particule au dimensiuni mai mici decît cele ale virusurilor similare de la animale și sînt parțial deteriorate.

— Laptele uman are activitate virulitică, adică de distrugere a virusurilor. S-a constatat că dacă se introduc virioni tip B sau C în lapte, aceștia își modifică structura și și pierde activitatea biologică (infecțiozitatea). Existența factorilor virulitici constituie motivul pentru care în laptele uman apar atît de rar particule virale intacte.

— Laptele uman conține particule care conțin ARN 70 S și revers-transcriptază, elemente caracteristice pentru oncornavirusuri. Aceste particule însă apar la fel de frecvent în laptele femeilor cu risc crescut pentru cancer mamar, ca și la cele martor (fără antecedente familiale).

Unii autori au afirmat că particulele decelate în laptele uman sînt de fapt particule tip D, similare virusului Mason-Pfizer de la maimuțe. Într-un studiu amplu, efectuat pe 841 eșantioane de lapte, s-a constatat că în 184 din ele există particule similare virusurilor tip D. Incidența apariției acestor particule este însă la fel de mare la femeile martore (40%), ca și la cele cu risc crescut pentru cancer mamar (37%).

S-a adus ca argument în favoarea originii virotice a cancerului de sân uman prezența particulelor similare virusurilor tip B și/sau C în 34% din biopsiile tumorale, în metastazele limfatice sau pleurale (de cancer de sân), precum și în celulele cultivate *in vitro*. Particule asemănătoare au fost însă constatate cu frecvențe similare și în tumorile benigne ale sînului și celulele epiteliale mamare provenite de la femeile normale în perioada de alăptare.

Testele imunologice de asemenea nu au reușit să furnizeze date concludente. Între anii 1971—1974 au fost publicate numeroase studii care aduc argumente în favoarea etiologiei virale a cancerului mamar. De exemplu, s-a

* Femeile parse din India (în special în Bombay) sînt o sectă religioasă care formează una din populațiile cele mai consangvine din lume și care prezintă o incidență de 3 ori mai mare a cancerului mamar.



constatat că serul bolnavelor cu cancer are un efect neutralizant asupra MuMTV mai puternic decât serul femeilor necanceroase. Existența anticorpilor anti-MuMTV în serul bolnavelor cu tumori maligne de sân a fost demonstrată prin teste de imunofluorescență, utilizându-se ca sursă de MuMTV celule de cancer mamar de șoarece producătoare de virus tip B. S-a constatat că 50% din bolnave și 40% din rudele lor au anticorpi, comparativ cu 15% din martorii sănătoși. Prin teste imunoenzimatică (imunoperoxidază) s-a arătat că în 33% din cazuri serul bolnavelor cu cancer de sân conține anticorpi anti-particule tip A de MuMTV (precursorii oncornavirusurilor tip B).

Prezența unei reacții imunologice de tip celular anti-MuMTV a fost demonstrată prin teste de inhibiție a migrării leucocitelor. S-a constatat că bolnavele care au o reacție imună de tip celular față de propria lor tumoră, reacționează față de antigenele MuMTV, iar cele care nu reacționează la tumoră autoloagă nu reacționează nici la MuMTV din laptele de șoarece. Aceste reacții pozitive sînt mult mai frecvente la bolnavele cu cancer *in situ* (70%) decât la cele cu cancer invaziv (35%) și aduc argumente în favoarea unei comunități antigenice între cancerul mamar uman (in situ) și MuMTV. Această ipoteză este susținută și de lucrările lui Müller și colab. (1972), care constată existența în serul bolnavelor a antigenelor similare cu cele ale MuMTV, decelabile prin teste imunologice foarte sensibile (teste radioimunologice) cu ajutorul anticorpilor anti-MuMTV.

Din păcate, specificitatea reacțiilor imunologice din aceste studii de început nu a fost determinată. Studiile ulterioare, care au utilizat antigene purificate de MuMTV, nu au confirmat primele rezultate obținute. În nici unul din cele 214 seruri testate nu a fost decelată glicoproteina (pg 47) a virusului MuMTV sau proteina structurală (p 28) a aceluiași virus în 338 de seruri. S-au găsit anticorpi antiparticule A și în serul bolnavelor cu tumori benigne ale sînului (mastopatie fibrochistică), gravidelor și la 11,6% din femeile martore. S-a constatat că anticorpul anti-glicoproteina majoră a MuMTV (gp 52) reacționează cu un antigen prezent în țesuturile de cancer mamar uman, dar această constatare trebuie să fie confirmată și de alte laboratoare, deoarece se pot cita cazuri în care datele prezentate de unele laboratoare nu au putut fi confirmate de alte laboratoare. De exemplu, s-a comunicat decelarea unui antigen specific al virusului Mason-Pfizer (p 27) în 8 din 18 cancere de sân umane, dar alte laboratoare, utilizînd aceleași condiții, nu l-au putut evidenția în nici una din tumorile examinate. Același antigen (p 27) a fost constatat în serul unor bolnavi cu diferite forme de cancer (inclusiv cancer de sân), dar alte două laboratoare nu confirmă aceste rezultate, deși au testat 240 de seruri.

Rezultatele obținute prin *studiile biochimice* sînt divergente. Unii autori (Spiegelman, Axel și Schlom) au constatat existența unei omologii între ARN izolat din tumorile mamare maligne și genomul virusului MuMTV, prin procedee de hibridizare moleculară (cu cADN). Alți autori însă (Bishop și colab.) au arătat că în general, gradul de hibridizare a acizilor nucleici depinde de condițiile tehnice utilizate: în condiții mai stricte nu au obținut hibridizarea, iar în condiții mai puțin stricte s-a realizat hibridizarea nu numai cu ARN din țesutul mamar malign, ci și cu cel din țesutul mamar normal sau chiar din placenta umană. În plus, gradul de hibridizare variază foarte mult (între 18-77%) chiar în cazul carcinoamelor de sân (Vaidya și colab.). Testele de hibridizare moleculară utilizate pentru evidențierea geno-

mului virusului Mason-Pfizer în cancerle mamare umane au dat rezultate pozitive în 70% din cazuri, la unii autori și negative la alții.

Revers-transcriptaza izolată din particulele purificate din laptele sau cancerle mamare umane are caractere diferite de cele ale oncornavirusurilor animale, inclusiv MuMTV și este imunologic înrudită cu cea a virusului Mason-Pfizer.

În concluzie, datele furnizate exclusiv de microscopia electronică nu sînt edificatoare, deoarece nu există o certitudine asupra naturii virale a particulelor decelate, în special în laptele uman. Chiar în cazul în care particulele evidențiate în laptele și în tumorile mamare maligne au origine virală, deoarece conțin ARN 70 S și transcriptază inversă, simpla lor prezență nu demonstrează obligatoriu rolul lor în etiologia cancerului uman. Originea virotică certă a adenocarcinoamelor murine, prezența informației oncornavirusului B (MuMTV) în unele tumori și leziuni precanceroase mamare umane sînt argumente care pledează în favoarea posibilității implicării cauzale a unui virus și în cazul omului, dar pînă în prezent datele existente sînt insuficiente pentru a confirma sau infirma această ipoteză. Sînt necesare studii mai aprofundate, tehnici mai perfecționate și în primul rînd este de dorit izolarea virusului de origine umană, deoarece acest virus poate să nu fie strîns înrudit cu oncornavirusurile animale cunoscute. Izolarea virusului uman ar reprezenta nu numai o performanță științifică, ci și instrumentul de lucru favorabil atît pentru decelarea existenței informației virale în cancerle umane, cît și pentru elucidarea mecanismelor prin care este indusă malignizarea.

11.4.

Virusurile papova umane

11.4.1.

Virusul papiloma (HPV — human papilloma virus)

HPV poate fi decelat în cantități apreciabile în unele tumori epiteliale benigne: în papiloamele sau negii cutanați (palmari, plantari etc.), în papiloamele laringiene, condiloamele genitale și în molluscum contagiosum. Virusul papiloma a fost primul virus transmis orizontal, de la o gazdă la alta, pe voluntari, în 1907, prin filtrate acelulare.

Inițial s-a considerat că toate formele histologice de papiloame umane sînt induse de același virus. În ultimii ani însă s-a constatat că există cel puțin 4 tulpini diferite de HPV: HPV-1, induce mai ales negii plantari, HPV-2 papiloamele palmare, iar HPV-3 și HPV-4 epidermodisplazia veruciformă. Deși tumorile induse de aceste virusuri sînt, în marea majoritate, benigne, se poate observa uneori o tendință de transformare malignă, similar cu fenomenul observat la papiloamele iepurilor. Malignizarea leziunilor survine mai frecvent la bolnavii infectați cu HPV-4*.

11.4.2.

Virusurile JC și BK

Sînt două virusuri papova foarte asemănătoare morfologic și înrudite imunologic cu virusul vacuolizant simian SV 40. Ele au fost izolate în 1971:

* Vezi addendum.



virusul JC (JCV) din creierul unor bolnavi de leuco-encefalopatie multifocală progresivă (Padgett și colab.), iar virusul BK (BKV) din urina unui bolnav imunosupresat după un transplant de rinichi (Gardner și colab.). Trei ani mai târziu a fost izolat un alt virus, care ulterior s-a dovedit că este o variantă a virusului BK, denumit tulpina MM, dintr-o tumoare cerebrală a unui copil cu o deficiență imunologică înăscută (sindrom Wiskott-Aldrich).

Ambele virusuri sînt oncogene la hamsterul nou-născut. Virusul JC induce apariția unor tumori maligne cerebrale: gliome, neuroblastoame periferice și tumori hipofizare, tumori producătoare de virus și transmisibile. Virusul BK realizează *in vitro* transformarea celulei provenite de la hamster sau alte specii (inclusiv primate), iar *in vivo* induce fibrosarcoame și tumori cerebrale la hamsterul nou-născut (ependimoame și papiloame ale plexului coroid).

Posibilitatea ca aceste virusuri să joace un rol etiologic în tumorile maligne cerebrale și renale umane este sugerată de constatarea că unele secvențe ale genomului virusului BK sînt prezente în 5 din 12 biopsii tumorale și în 3 din 4 linii celulare realizate din tumorile maligne umane și de prezența virusului BK (tulpina MM) într-o tumoare cerebrală. Acest rol rămîne încă sub semnul întrebării, deoarece alte studii nu au găsit secvențe ale genomului virusului BK în nici una din cele 166 de tumori și 7 linii celulare testate.

Infecțiile cu virus BK și JK sînt foarte larg răspîndite în populația umană, așa cum reiese din faptul că pînă la 10 ani 60—90% din copii prezintă anticorpi antivirali și peste 70% din populația adultă au anticorpi.

11.5.

Virusul hepatitei B (HBV)

Legătura dintre virusul hepatitei epidemice B și carcinomul hepatocelular primar este sugerată de date epidemiologice și experimentale:

— Carcinomul hepatocelular primar este mult mai frecvent în regiunile în care predomină purtătorii cronici de HBV (Africa de Vest și Est, China, Filipine).

— S-a constatat persistența infecției cu HBV într-o proporție mult mai mare la bolnavii cu cancer hepatic primitiv, comparativ cu restul populației. Persistența infecției este demonstrată de prezența antigenului de suprafață a HBV (HBsAg, cunoscut și sub denumirea veche de antigen Australia) și a anticorpilor anti-antigenul viral din miezul virusului în serul acestor bolnavi. Astfel, în Taiwan 80% din bolnavii cu carcinom primar hepatocelular au HBsAg, comparativ cu 15% din populația matoră, în Senegal 61% față de 11%; chiar și în țările în care hepatita B nu este endemică, ca SUA, proporția este foarte diferită: 41% față de 0,5% la matori; Japonia 37% față de 3%. Studiile efectuate prin urmărirea timp de cîțiva ani a populației din Taiwan au arătat că la persoanele HBsAg-pozitive riscul de a face cancer hepatic este de 250 de ori mai mare decît la cele HBsAg-negative.

— Carcinomul hepatocelular primitiv se dezvoltă de obicei în ficatul afectat de ciroză sau hepatită cronică, sau ambele, mai ales la bolnavii HBsAg-pozitivi.

— S-a constatat prezența informației virale, sub formă integrată în ADN al celulelor maligne la 4 bolnavi cu hepatom primitiv. În plus, o linie celulară obținută din acest tip de tumoare produce HBsAg.

S-a identificat un virus similar HBV uman la marmote (rozătoare din America), animale la care incidența carcinomului hepatic primitiv este foarte ridicată (25%) în mod natural. Tumorile acestor animale se dezvoltă de obicei pe leziuni de hepatită cronică. S-a stabilit că există o corelație strânsă între persistența infecției virale și carcinomul hepatic al acestor animale, iar prin procedeele de hibridizare moleculară s-a constatat existența informației virale sub formă integrată în celulele maligne. Alte virusuri asemănătoare HBV au fost găsite la găștele domestice din China, la care se constată o incidență crescută a cancerului hepatic, la rasa Pekin de găște din SUA și la o specie de maimuțe din California. Virusul HBV și virusurile similare au fost denumite „Icrons” (de la inițialele Institute for Cancer Research) și sînt utilizate ca modele experimentale în elucidarea legăturii dintre infecția virală și cancerul hepatic. Această legătură nu este elucidată pînă în prezent. Nu se știe dacă hepatoamele iau naștere din nodulii de regenerare din ciroza hepatică indusă de HBV printr-un mecanism în care nu este implicat virusul, sau dacă virusul este de fapt oncogen și transformă celulele pe care le invadează.

11.6.

Concluzii

Etiologia virală a cancerelor umane nu este demonstrată indubitabil pînă în prezent. În unele forme de cancer există virusuri suspectate ca avînd rol cauzal, „virusuri candidate”, care sînt intens studiate în multe laboratoare atît în privința potențialului lor oncogen, cît și al mecanismului prin care se malignizează celulele: virusul Epstein-Barr, herpesvirus simplex tip 2, citomegalovirusul sau oncornavirusul tip C (izolat de Gallagher și Gallo). În alte cazuri, originea virală a unor tumori umane se bazează mai ales pe existența unor analogii cu unele virusuri oncogene animale. În orice caz, din modelele experimentale se știe că leziunea canceroasă este o boală de origine multifactorială. Infecția cu virusuri oncogene este o condiție prealabilă necesară, dar nu este suficientă pentru dezvoltarea tumorilor. Sînt necesari sau chiar esențiali și alți cofactori de natură *endogenă*: constituție genetică, vîrstă, sex, factori hormonal și imunologici sau *exogenă*: radiații sau carcinogeni chimici. Studiile din ce în ce mai detaliate, utilizarea unor metode perfecționate vor duce fără îndoială la elucidarea datelor atît de divergente din oncovirologia umană, așa cum remarcă un mare virusolog, Sabin: „Îmi pun întrebarea: cît timp va continua discuția în jurul etiologiei virale a cancerelor umane? Singurul răspuns este că ea va dura atîta pînă cînd tehnicile vor putea să rezolve aspectele neelucidate”.

Bibliografie

- AARONSON S. A., STEPHENSON J. R. — *Biochim. Biophys. Acta* (Amst.), 1976, 458, 323—354.
 ALTANER C., TEMIN H. M. — *Virology*, 1970, 40, 118—134.
 AOKI T., WALLING M. J., BUSHAR G. S., WU M., HSU K. C. — *Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.)*, 1976, 73, 2 491—2 495.
 BALTIMORE D. — *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1974, 39, 1 187—1 200.
 BALTIMORE D. — *Science*, 1976, 192, 632—636.
 BENYESH-MELNICK M., BUTEL J. — *Oncogenic Viruses*, in: “The Molecular Biology of Cancer”, sub red. H. Busch, Academic Press, New York, 1974, p. 403—484.

- LARSEN C. J. — *Path. Biol.*, 1977, 25, 247—275.
- LEVENTHAL B. G. — *Cancer*, 1975, 35, 1 015—1 021.
- LEVY J. A. — *Amer. J. Clin. Pathol.*, 1974, 62, 258—280.
- LEVY J. A. — *Cancer Res.*, 1977, 37, 2 957—2 968.
- LEVY J. A. — *Biomedicine*, 1981, 34, 4—8.
- LURIA S. E., DARNELL J. E., BALTIMORE D., CAMPBELL A. — *General virology*, Ed. III, J. Wiley & Sons, New York, 1978.
- MÄNTYJÄRVI R. A. — *Med. Biol.*, 1979, 57, 29—35.
- MARN J. L. — *Science*, 1974, 183, 1 066—1 070.
- MATHÉ G., CATTAN A. — *Cancérologie*, Expansion Sci. Franç. Paris, 1976.
- MAUGH T. H. — *Science*, 1974, 183, 1 181—1 185.
- McGRATH M. S., WEISSMAN I. L. — A receptor-mediated model of viral leukemogenesis: Hypothesis and experiments, in: "Hematopoietic Mechanisms", Cold Spring Harbor Lab., 1978, p. 577—589.
- MOORE D. H., CHARNEY J., KRAMARSKY B. și colab. — *Nature* 1971, 229, 611—615.
- MOORE D. H. — *Cancer Res.*, 1974, 34, 2 322—2 329.
- NACHTIGAL M. — *Stud. Cercet. Virusol.*, 1973, 24, 13—38.
- NATHANS D. — *Science*, 1979, 206, 903—909.
- PIMENTEL E. — *Biochim. Biophys. Acta (Amst.)*, 1979, 560, 169—216.
- RAPP F. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1973, 50, 825—832.
- RAPP F., REED C. L. — *Cancer*, 1977, 40, 419—429.
- ROUSSEL M., SAUL S., LAGROU C. și colab. — *Nature*, 1979, 281, 452—455.
- ROWE W. P. — *Cancer Res.*, 1973, 33, 3 061—3 068.
- SARNGADHARAN M. G., ALLAUDEEN H. S., GALLO R. C. — Reverse transcriptase of RNA — tumour viruses and animal cells, in: "Methods in Cancer Research", sub redacția: H. Busch, vol. XII, Academic Press, New York, 1976, p. 3—48.
- SEMAN G., DMOCHOWSKI L. — Methods for electron microscopy of viruses, in: "Methods in Cancer Research" sub redacția: H. Busch, vol. XII, Academic Press, New York, 1976, p. 178—258.
- SHERR G. J., TODARO G. J. — *Science*, 1975, 187, 855—857.
- SHERR C. J., TODARO G. J. — *Springer Semin. Immunopathol.*, 1979, 2, 339—352.
- SHILLITOE E. J., RAPP F. — *Springer Semin. Immunopathol.*, 1979, 2, 237—259.
- SIMU G. — *Imunitate și cancer*, Ed. medicală, București, 1978.
- STEHELIN D., GUNTAKA R. V., VARMUS H. E., BISHOP J. M. — *J. Molec. Biol.*, 1976, 101, 349—365.
- STEPHENSON J. R., ANDERSON G. R., TRONICK S. R., AARONSON S. A. — *Cell*, 1974, 2, 87—94.
- SVOBODA V. — Lecture presented on COMECO Conference "Viral Carcinogenesis and its Molecular Biological Aspects" Bratislava, 1977.
- TEMIN H. M. — *Cancer Res.*, 1974, 34, 2 835—2 841.
- TEMIN H. M. — *Science*, 1976, 192, 1 075—1 080.
- TEMIN H. M. — *Cancer*, 1977, 39, 422—428.
- THÉ G. de, EPSTEIN M. A., ZUR HAUSEN H. (sub redacția) "Oncogenesis and herpes-viruses II:" part. 1 și 2, Lyon Intern. Agency, IARC Sci. Publications, 1975.
- THÉ G. de, HENLE W., RAPP F. (sub redacția) — Oncogenesis and Herpesviruses III, part. 1 și 2., IARC Sci. Publications, 1978.
- TODARO G. J. — *Brit. J. Cancer*, 1978, 37, 139—159.
- TODARO G. J., DE LARCO J. E. — Properties of sarcoma growth factors (SGF_s) produced by mouse sarcoma virus-transformed cells in culture, in: "Control mechanisms in animal cells", sub redacția L. J. de Asua, R. Levi-Montalcini, R. Shields, S. Iacobelli, Raven Press, New York, 1980, p. 223—244.
- VAUX SAINT CYR, CH. de — *Bull. Cancer*, 1978, 65, 43—48.
- VAN ZAANE D. — Gene expression of Rauscher leukemia virus. Teză de doctorat, 1977.
- VAN ZAANE D., BLOEMERS H. P. J. — *Biochem. Biophys. Acta (Amst.)*, 1978, 516, 249—268.
- VOGT P. K. — *Advanc. Virus Res.*, 1965, 358—385.
- WALKER D. L. — *Path. Biol.*, 1976, 24, 667—669.
- WANG L. H. — *Ann. Rev. Microbiol.*, 1978, 32, 561—592.
- WEIL R. — *Biochim. Biophys. Acta (Amst.)*, 1978, 516, 301—388.
- WUR., JAY E., ROYCHOUDHURY R. — Nucleotide sequence analysis of DNA, in "Methods in Cancer Research", sub redacția: H. Busch, vol. XII, Academic Press, New York, 1976, p. 88—170.

12.

Bacteriile și cancerul

PARASCHIVA IMREH

Cuprins

12.1. Acțiuni dăunătoare — 421

12.1.1. Rolul bacteriilor în carcinogeneza umană — 421

12.1.1.1. Producerea bacteriană de carcinogeni și promotori — 422

12.1.1.1.1. Hidroliza carcinogenilor conjugați — 422

12.1.1.1.2. Metabolismul aminoacizilor — 423

12.1.1.1.3. Formarea N-nitrozo compușilor — 424

12.1.1.1.4. Metabolismul acizilor biliari — 424

12.1.1.2. Rolul carcinogenilor sau promotorilor bacterieni în carcinoza umană — 425

12.1.1.2.1. Bacteriile și apariția cancerului colorectal — 425

12.1.1.2.2. Bacteriile, nitrații și cauzele cancerului gastric — 426

12.1.1.2.3. Cancerul vezical la bolnavii cu bilharzioză — 427

12.1.1.2.4. Cancerul de colon la bolnavi cu anastomoză uretero-sigmoidiană — 427

12.1.1.2.5. Bacteriile și cancerul biliar sau de pancreas — 428

12.1.1.2.6. Bacteriile și cancerul de col uterin — 428

12.1.1.2.7. Bacteriile, estrogenii și cancerul de sin — 429

12.1.2. Riscul infecției la bolnavii canceroși — 430

12.2. Acțiuni favorabile — 433

12.2.1. Rolul infecțiilor bacteriene în terapia cancerului — 433

12.2.2. Oncoliza clostridiană — 434

12.2.2.1. Oncoliza clostridiană în tratamentul cancerului — 434

12.2.2.2. Oncoliza clostridiană în diagnosticul cancerului — 435

12.1.

Acțiuni dăunătoare

12.1.1.

Rolul bacteriilor în carcinogeneza umană

a) Bacteriile ca factori cancerigeni direcți. *Sindromul Whipple* (lipodistrofia intestinală, histioreticuloza gravă recidivantă), afecțiune foarte rară, predominantă la bărbat, caracterizată anatomic prin depozite de grăsime

în ganglionii mezenterici (adenită mezenterică lipoidică) și clinic prin steatoree, ascită chiloasă, poliartrită, subfebrilitate, denutriție progresivă, pigmentația mucoasei bucale etc., s-a dovedit a fi de natură microbiană. Deși corinebacteriile anaerobe sînt cunoscute încă din secolul trecut și se cunosc cîteva sute de tulpini, numai în ultimii 20 de ani a început studiul lor ca agenți etiologici ai bolii Whipple. Pe lîngă *Corynebacterium anaerobium*, în etiologia bolii se incriminează și alte specii de corinebacterii anaerobe. S-a demonstrat prezența corinebacteriilor în ganglionii inghinali și mezenterici extirpați operator, precum și în endoteliul vascular al țesuturilor afectate; apar atît în frotiu direct, cît și în cultură pură în urma însămînțării. Diferite tulpini provoacă histioreticuloză acută mortală la șoareci și iepuri. *C. anaerobium* este un germen Gram-pozitiv care se identifică cu corpusculi falciformi PAS-pozitivi Sieracki, fagocitați de histiocyte (glicoproteine), cu localizare în peretele intestinal (mucoasă, submucoasă), mezenter și ganglionii mezenterici; există și supraîncărcarea lipidică intestinală și ganglionară. O dovadă indirectă a etiologiei bacteriene o constituie succesul tratamentelor cu antibiotice. S-au obținut rezultate bune cu tratament masiv și prelungit (6—18 luni) cu antibiotice și sulfamide (penicilină, streptomycină, tetraciclină, eritromicină, teramicină, cloramfenicol, respectiv salazopirină) asociate cu corticosteroizi. Metafilaxia bolii privind recidivele impune o terapie antibacteriană prelungită pînă la sterilizarea țesuturilor.

b) Bacteriile ca factori cancerigeni indirecti. În general se acceptă că majoritatea cancerelor umane au în etiologia lor și un factor de mediu. Este foarte puțin probabil ca flora bacteriană, datorită răspîndirii și înaltei activități metabolice să nu joace și ea un rol. Multe forme de cancer sînt legate de alimentație, iar carcinogeni prezenți în alimente au fost rar descriși direct cancerigeni.

Flora microbiană intestinală joacă un rol cheie ca intermediar în această relație în legătură cu alimentația. Vom descrie substanțele carcinogene și promotori produși sub acțiunea bacteriilor din substraturi benigne, apoi rolul acestora în carcinogeneza umană.

12.1.1.1.

Producerea bacteriană de substanțe carcinogene și promotori

12.1.1.1.1.

Hidroliza carcinogenilor conjugați.

Cicazina este o glicozidă vegetală care provine din nuci de *Cycas revoluta* (ord. Cycadeles), fiind o beta-glicozidă a metil-azooximetanolului (MAM). În unele părți din sud-estul Asiei, principala sursă de amidon o constituie nucile de *Cycas*, care sînt spălate în ape repetate pentru a îndepărta cicazina, aceasta fiind hepatotoxică pentru om. Administrată parenteral la șobolani, induce tumori intestinale, hepatice și renale (Laquer, Spatz, 1968); în cazul șobolanilor germ-free nu au apărut însă tumori și nu arăta hepatotoxicitate nici în cazul administrării perorale, nici în cazul administrării parenterale. Agliconul, MAM s-a dovedit a fi substanță puternic carcinogenă și hepatotoxică administrată pe ambele căi atît la șobolani obișnuiți, cît și la animale germ-free. Glicozida în sine nu este nici hepatotoxică, nici carcinogenă; agliconul activ se obține cu ajutorul beta-glicozidazei produsă de flora intestinală din colon. Beta-glicozid-

daza produsă de mucoasa intestinală este strict substrat specifică și în special inactivă față de cicazină. Proprietățile toxice și carcinogene ale acestui compus se datoresc beta-glicozidazei bacteriene relativ nespecifice, cu care se realizează MAM aglicon. Nu se știe dacă cicazina este unicul metabolit vegetal indiscutabil carcinogen, sau este reprezentantul unei clase cu beta-glicozide încă neidentificate.

Multe substanțe carcinogene provenite din mediu, în special *hidrocarburi aromatice policiclice (HAPn)*, sînt hidroxilate în ficat, conjugate cu sulfații și glucuronidele lor, apoi secretate în bilă. Cînd aceste substanțe conjugate ajung în regiuni bogat populate cu floră intestinală, sînt deconjugate de beta-glucuronidază sau sulfataza bacteriană și se ajunge la hidroxi-HAP, care sînt reabsorbite și revărsate în ficat, apoi reconjugate și secretate din nou în bilă. Proporția conjugatelor care rezistă deconjugării și cantitatea secretată depind de activitatea enzimelor care induc deconjugarea și acționează specific asupra substratului. La următoarea deconjugare, unele bacterii dehidroxilează agliconul, rezultînd carcinogenul sub formă activă (Renwick, Drasar, 1976). Cu toate că hidroxi-HAPn nu sînt carcinogene sau mutagene și nu se pot lega de ADN, Kinoshita și Gelboin (1978) au arătat că în urma hidroxilării bacteriene a dihidroxi-benzpiren-glucuronidei rezultă un produs care s-ar putea lega de ADN și poate să aibă un potențial carcinogen. Ar fi un mecanism posibil care ar explica infecțiile biliare urmate de carcinomul căilor biliare.

12.1.1.1.2.

Metabolismul aminoacizilor

Unii aminoacizi pot fi metabolizați potențial de flora intestinală și se pot produce substanțe carcinogene, mutagene sau promotorii acestora. Putem da trei exemple:

— *Metionina in vitro* este metabolizată sub forma analogului său S-etil, etionina, de unele specii bacteriene (inclusiv specii comune în flora intestinală normală, de exemplu *Escherichia coli*), cînd sînt cultivate pe medii cu săruri minerale și glucoză, îmbogățite cu sulfați și metionină (Fischer și Melletter, 1963). Etionina a fost găsită carcinogenă pentru prima dată de Farber (1960), iar Weisburger (1971) sugerează că ar avea rol în carcinogeneza colonului la om, ipoteză care ar merita investigații ulterioare. Nu am găsit alte date referitoare la acest subiect.

— *Tirozina* este metabolizată de flora intestinală sub forma unor fenoli volatili (fenol, p-crezol, 4-etil-fenol). Aceștia sînt absorbiți din intestin și excretați în urină. Un om sănătos excretă 50—100 mg de fenoli volatili urinari pe zi, în cea mai mare parte sub forma de p-crezol (Bone, Tamm și Hill, 1976). Bontwell și Bosch (1955) au arătat că aplicarea locală a diferiților fenoli induce dezvoltarea cancerului de piele la șoareci (de exemplu, o doză mică de dimetil-benzantracen). Printre substanțele active din această clasă mai găsim fenolul și p-crezolul. Rezultatele au fost confirmate de Wynder și Hoffman (1968). Fenolii volatili produși de bacterii au fost puși în evidență în suc intestinal, urină și fecale la bolnavii care conțin în intestinul gros o floră bacteriană foarte abundentă și cantitatea lor este în

funcție de alimentația proteică și de durata tranzitului intestinal (Cummings și colab., 1979).

— *Triptofanul* este metabolizat în ficat și de flora intestinală, sub forma unor metaboliți care sînt apoi excretați în urină. Rose (1967) pune în evidență numeroși metaboliți urinari ai triptofanului. Cu toate că unii din aceștia sînt produși exclusiv de bacterii, de exemplu, indicanul și acidul quinaldic, nu există date precise asupra activității ficatului și a bacteriilor, asupra valorilor urinare a acestor metaboliți. Cîțiva metaboliți ai triptofanului au fost găsiți ca promotori ai tumorilor în cazul inoculării vezicale sau ca mutageni cînd au fost studiați cu testul Ames de Bryan (1971) și Yoshida, Brown și Bryan (1971), care presupun că acești metaboliți ar fi implicați în producerea cancerului vezicii la om.

12.1.1.1.3.

Formarea N-Nitrozo compușilor

Formarea N-Nitrozo compușilor are loc *in vivo* din nitriți și compuși amino în mediu acid sau neutru sub acțiunea bacteriilor (Hawksworth și Hill, 1971; Sander, 1968). Pot să ia naștere oriunde dacă nitriții, compuși aminați nitrozabili și bacteriile coexistă. Prin alimentație se consumă o cantitate foarte mică de nitriți (White, 1975), dar nitrații sînt ușor reduși de unele specii bacteriene și sînt prezenți în alimente într-o cantitate în jur de 120 mg/zi în USA (White, 1975) și Marea Britanie (Walker, 1975). Studiind echilibrul nitraților, Bartholomew, Darbor și Hill (1975) arată că nitrații administrați peroral sînt absorbiți rapid în intestinul subțire, apoi secretați în salivă sau excretați în urină. Concentrația în salivă crește și atinge valoarea maximă după o oră, revenind la valoarea inițială după aproximativ 5 ore; concentrația urinară ajunge la valoarea maximă după 3—4 ore, scade încet și ajunge la nivelul normal după aproximativ 12—15 ore. Alte studii (Ruddel, Blendis și Walters, 1976) arată că acești nitrați sînt secretați în suc gastric și sînt prezenți și în alte secreții (transpirație, lacrimi etc.). Unele amine secundare sînt sintetizate în colon, sub acțiunea bacteriilor secretate în primul rînd în urină; sînt prezente în stomac și salivă, iar N-nitrozarea catalizată de bacterii a fost demonstrată în salivă (Tannenbaum și colab., 1978), în stomac (Walters, Ruddel și Hill, 1978), în colon (Wang și colab., 1978), în vezica urinară (Brooks și colab., 1972; Hicks și colab., 1978; Radomski și colab., 1978) și în vagin Allsbrook și colab. 1975). N-nitrozo compușii, probabil carcinogeni organotropici (N-nitrozamine) sau acționînd local (N-nitrozamide), formează un grup foarte puternic carcinogen la toate speciile de animale testate și nici o specie nu este rezistentă față de acțiunea lor, fiind greu de crezut că singură specia umană ar face excepție.

12.1.1.1.4.

Metabolismul acizilor biliari

Acizii biliari, acidul colic și chenodezoxicolic sînt sintetizați în ficat, apoi secretați în bilă sub forma amidelor lor, conjugate cu taurine și glicine. Trec prin circulația entero-hepatică, după ce au participat la procesul de digestie a alimentelor, urmînd apoi rezorbția lor în ileusul terminal cu o eficiență de

98%; 2% urmează mai departe ciclul enteral, ajungând în intestinul gros, unde sînt supuși metabolismului intens al florei intestinale. O parte din acești metaboliți se întorc în colon prin rezorbție pasivă, ajungând din nou în ficat pe calea venei porte și sînt reconjugați și secretați din nou în bilă. În consecință bila conține acizi biliari produși sub acțiunea bacteriilor, adăugîndu-se la acizii biliari primari sintetizați în ficat. Metabolizarea acizilor biliari de către flora intestinală a fost studiată de Hill (1975).

Unii acizi biliari produși de bacterii, în special acidul dezoxicolic și litocolic, sînt considerați ca promotori în carcinogeneza de colon (Chomehai, Bhadrachari și Nigro, 1974; Narisawa și colab., 1974) și tegument (Salaman și Roe, 1956) la șobolani. Testul Ames (Silverman și Andrews, 1977) arată că sînt mutageni sau indiscutabil carcinogeni (Cook, Kennaway și Kennaway, 1940). Promovarea carcinogenezei de produșii bacterieni (acid dezoxicolic și litocolic) a fost mai slabă la animalele germ-free decît la șobolani obișnuiți (Reddy și colab., 1975), observație care arată că metabolizarea lor ulterioară le conferă activitatea maximă.

12.1.1.2.

Rolul carcinogenilor sau promotorilor bacterieni în carcinogeneza umană

Substanțele carcinogene sau promotorii descriși în capitolul precedent sînt implicați în unele cancere umane. Vom urmări rolul acestora în diferite localizări (intestin, stomac, vezică urinară, vezică biliară, pancreas, col uterin, sîn) pe baza datelor epidemiologice. În toate cazurile am încercat folosirea doar a datelor din ultimul deceniu, perioada în care rolul metaboliților bacterieni s-a clarificat mult, dar în acest domeniu pot fi prezentate mai multe ipoteze.

12.1.1.2.1.

Bacteriile și apariția cancerului colo-rectal

Cancerul colo-rectal este răspîndit în nordul și vestul Europei, în America de Nord, Australia, Noua Zeelandă, Argentina și Uruguay și mai rar în Asia, Africa Neagră, America Centrală și țările Anzilor. Incidența crescută se explică prin nivelul național al factorilor social-economici și este strîns legată de obiceiurile de alimentație. Epidemiologia acestei boli a fost amănunțit studiată (Hill, 1975; Wynder, 1975). Regimul alimentar, carnea sau grăsimile, participă mult la geneza acestei boli, deși nu au fost detectate substanțe alimentare carcinogene care să explice distribuția cazurilor. Aries și colab. (1965) formulează postulatul că această boală ar fi determinată în intestinul gros de flora intestinală din unele substraturi benigne. Acest postulat a fost reformulat, trecîndu-se la etiologia multifactorială (Hill, Morson și Bussey, 1978), arătîndu-se că probabil sînt implicați și factori genetici. În noua formulare, în cadrul populației riscul individual este determinat de factori genetici, apariția bolii însă este mediata de bacterii, în funcție de factorii alimentari.

Cantități mari de grăsime determină probabil preponderența florei bacteriene intestinale capabilă să descompună aceste substanțe. În zonele cu incidență scăzută a cancerului de colon se găsesc un număr mai mic de germeni din grupul *Bacteroides* (anaerobi) și un număr mai mare de enterococi (*Strep-*

tococcus faecalis) din germenii aerobi. Hill și Drasar (1974) au reușit să sintetizeze un compus aromatic policiclic din steroizii biliari, care devine cancerigen prin acțiunea tulpinilor de *Bacteroides fragilis*, *Clostridium paraputreficum* și *Clostridium butyricum* (anaerobi).

Hill a sintetizat în 1977 datele referitoare la carcinogenele și promotorii amintiți în capitolul precedent și arată că datele actuale sprijină ideea potrivit căreia metabolismul sărurilor biliare, în special acizii steroizi nesaturați, pot fi cancerigeni. Arată că trebuie testată curent concentrația variatelor combinații complexe din acizii biliari fecali, paralel cu stabilirea componenței florei intestinale la persoane sănătoase și bolnavii cancerosi cu diferite localizări.

În 1980, Vargo și colab. folosesc medii de cultură selective pentru izolarea florei intestinale predominantă la bolnavii cu cancer de colon, cu alte cancere, în afara localizării gastro-intestinale și cu boli nemaligne. Bolnavii cu cancer de colon și cu boli nemaligne nu diferă în ceea ce privește numărul total de aerobi și anaerobi. În grupul cu cancer de colon găsesc semnificativ mărit raportul anaerob față de grupul normal. Aceasta se datorește predominanței florei aerobe și scăderii numărului cocilor anaerobi, speciilor de *Eubacterium* și *Fusobacterium* la bolnavii cu cancer de colon. Studii anterioare raportează că organismele aerobe pot să producă mai ușor amine decât bacteriile anaerobe nesporulate. Dacă flora intestinală poate produce nitrozamine carcinogene *in vitro* din amine și nitrați, bacteriile aerobe din fecale au probabil importanță în asigurarea substratului de amine pentru nitrozare. Comparatia dintre grupul cu alte cancere și bolnavii cu afecțiuni nemaligne, arată o diferență semnificativă în ceea ce privește flora totală anaerobă și în privința compoziției florei fecale.

12.1.1.2.2.

Bacteriile, nitrații și cauzele cancerului gastric.

N-nitrozamidele sînt direct carcinogene, inducînd tumori la locul aplicării, în timp ce N-nitrozaminele sînt organotropice și induc tumori în organele specifice, indiferent de locul aplicării. Compușii N-nitrozo, se formează probabil peste tot în corpul omenesc, unde coexistă nitrați, diferite amine nitrozabile și bacterii. N-nitrozaminele au fost puse în evidență în salivă, stomac, colon, vezică urinară și vagin, dar sînt reținute, datorită caracterului lor organotropie numai dacă sînt activate local și nu există date că fiecare din nitrozamine ar avea organ-țintă în corpul omenesc. Totuși, unii N-nitrozo compuși sînt importanți în cancere și anume cei care au putut fi puși în evidență în organele țintă în cazul creșterii incidenței cancerului la persoanele care consumă cantități mari de nitrați.

Studii epidemiologice au ajuns la concluzia că în zonele unde se consumă cantități mari de nitrați, incidența cancerului gastric este mai mare decît la persoanele cu regim alimentar sărac în nitrați. Aceste studii au fost verificate de Hill (1979), care arată că ori stomacul este organul țintă pentru toate nitrozaminele produse în corpul omenesc, ori N-nitrozaminele produse în stomac sînt activate local de flora microbiană mixtă pe care o conține.

În al doilea rînd, între stomacul persoanelor cu anemie pernicioasă și colonul bolnavilor cu anastomoza uretrosigmoidiană există o analogie; în ambele grupuri de bolnavi au fost puși în evidență N-nitrozo compuși.

S-a demonstrat rolul pe care N-nitrozaminele formate în vezica urinară îl au și în carcinogeneza gastrică. Ar fi interesant de studiat incidența cancerului gastric la persoanele cu infecții urinare cronice sau repetate.

Mecanismul interacțiunii bacterii-nitrați a fost demonstrat de Tannenbaum și colab. (1978) și se bazează pe mecanismul formulat de Correa și colab. (1975).

12.1.1.2.3.

Cancerul vezical la bolnavii cu bilharzioză

Producerea N-nitrozaminelor în vezica urinară a fost demonstrată de unii cercetători (Brook și colab., 1972; Radomski și colab., 1978). În infecțiile urinare la persoanele din Vest s-au dezvoltat monoculturi cu *Escherichia coli* (80%) sau *Proteus ssp.* (10%), iar restul de 10% cuprinde alte organisme (Savage, Haj și Kass, 1967). Enterobacteriile sînt organisme intens nitrozante (Hawksworth și Hill, 1971) și provin în general din colon (tulpinile izolate din urină au serotipul identic cu cele izolate din colon). Cu toate că nitrozaminele se produc în vezica urinară, în cazul infecțiilor urinare ele nu au în mod normal o acțiune locală și nu pot induce cancer de vezică.

În cazul bilharziozei, se asociază frecvent suprainfecția microbiană mixtă cu germeni aerobi și anaerobi (Hicks și colab., 1977). Acest fapt este probabil rezultatul atacului unor tulpini noi din colon, care se asociază cu infecțiile anterioare. Se produce o cantitate mult mai mare de nitrozamine decît în cazul infecției cu un singur germen, diferiți germeni avînd probabil efect sinergic. Nitrozaminele astfel parțial activate sînt mutagene în testul Ames și potențial pot fi cauzele malignizării. Producerea și activarea bacteriană a N-nitrozo compușilor poate fi explicația asocierii cancerului vezical cu bilharzioza în Egipt.

Hicks și colab. (1977) arată că la șobolani paraplegici sau hemiplegici, predispuși la infecții urinare cronice cu mai mulți germeni asociați, riscul apariției cancerului de vezică este mai mare, probabil datorită aceleiași etiologii.

12.1.1.2.4.

Cancerul de colon la bolnavii cu anastomoză uretero-sigmoidiană

În cazul infecțiilor urinare numărul organismelor trece peste 10^7 germeni/ml, iar în colon numărul normal este de 10^{11} germeni/g și include un număr mare de tulpini care pot să reducă nitratii și un număr mare de organisme capabile să catalizeze N-nitrozarea. În consecință, devărsarea urinii (sursă bogată de nitrați și amine nitrozabile), în colon este un mecanism care *in vivo* produce N-nitrozo compuși. Experiențele au dovedit că urina acestor bolnavi este o sursă bogată de substanțe mutagene (la folosirea testului Ames), indicînd activarea care a avut loc. În mod analog cu bolnavii cu bilharzioză, la acești bolnavi incidența cancerului de colon este mai mare.

Anastomoza uretero-sigmoidiană este o intervenție chirurgicală aplicată la bolnavi care în general, în urma unui accident au pierdut vezica urinară, executată des la persoane tinere [a fost descrisă de Richie și Skinner/1975/], cu organismul în creștere. Statisticile arată că acești bolnavi supraviețuiesc cu

peste 15 ani anastomozei ureterosigmoidiene, riscul apariției adenocarcinomului de colon fiind mare. Studiul a fost însă făcut pe un număr relativ mic de cazuri, aproximativ 500 (Urdunata și colab., 1966) cu timp de latență medie de 20 ani (Tank, Karsch și Lapedes, 1973).

12.1.1.2.5.

Bacteriile și cancerul biliar sau de pancreas

Hidrocarburile policiclice aromatice (HPA) sînt hidroxilate în ficat, conjugat cu glucuronide sau sulfați și secrete în bilă. Cînd ajung în bilă la o concentrație mare, ajung în cantități mari în corpul omenesc; deconjugarea și apoi metabolizarea este intensă, iar produșii finali sînt carcinogeni. Acest tip de metabolism a fost descris de Renwick și Drasar (1976). Kinoshita și Gelboin (1978) au demonstrat că, deși 3-hidroxibenzipirenul nu poate scinda molecula de ADN, probabil că produșii de hidroliză, glucuronidele sînt capabile după o scurtă activare intermediară să scindeze molecula de ADN, putînd fi carcinogene. Pe lîngă aceasta, bila este bogată și în conjugatele acizilor biliari, care în colo-rectul șobolanilor s-au dovedit a fi cocarcinogene (Narisawa și colab, 1974). Bila este deci o sursă bogată de substanțe carcinogene, mutagene și promotori sub forma conjugatelor, care pot fi ușor hidrolizate de enzimele bacteriene. Doewenfels (1979) sugerează ideea că ar exista o legătură între colonizarea bacteriană a căilor biliare în mod normal sterile și cancerul de căi biliare, respectiv cancerul de pancreas. 60% din cazurile de litiază biliară sînt asociate cu biliculturi pozitive cu germeni anaerobi (England și Rosenblatt, 1977; Shimada, Inamatsu și Yamashiro, 1977) și prezintă un risc mai mare de apariție a neoplasmului biliar (Fiaumeni, 1975). Asocierea este mai accentuată la femei decît la bărbați. La 80—90% din femeile cu cancer biliar această boală a fost precedată de litiaza biliară (Fiaumeni, 1975; Hart, Modan și Shani, 1971). Ulterior, Welton, Marr și Friedman (1979) au demonstrat că decesele bolnavilor purtători de *Salmonella typhi* sînt de 6 ori mai frecvente în urma cancerului hepatobiliar decît la persoanele din grupele de control.

Aceste date sprijină rolul bacteriilor în geneza carcinomului căilor biliare prin deconjugarea carcinogenelor biliare.

12.1.1.2.6.

Bacteriile și cancerul de col uterin

Rolul virusurilor în displaziile cervicale este bine studiat. Studii recente încearcă să stabilească o legătură între infecțiile bacteriene genitale și atipiile cervicale sau cancerul de col uterin.

Astedt și colab. (1978) găsesc la bolnave cu infecții gonococice vechi de peste 20 de ani o frecvență semnificativ mai mare a carcinomului cervical, aproximativ 20% față de grupul martor (5%). Aceste rezultate vin în sprijinul opiniei că infecțiile genitale predispun la neoplazii cervicale.

J.F. Lyons și colab. (1974) au urmărit incidența micoplasmelor genitale la populația feminină adultă. Se știe că în culturi de țesuturi micoplasmale determină modificări mitotice, inclusiv fragmentări și translocatii cromozomiale (Kundsın și colab., 1969). Lyons și colab. au găsit însă micoplasme în porții egale la grupul cu displazii și grupul control. Cu toate că nu au găsit

nici o corelație între infecțiile cu *Mycoplasma* și cancer, autorii consideră că nu pot să excludă influența oncogenică prealabil posibilă a acestui agent.

Paarvonen și colab. (1979) au urmărit un alt grup de microorganisme cunoscute sub denumirea de rickettsii, pararickettsii sau virusuri bazofile, obligator intracelulare, dar cu complexe chimice și structurale care caracterizează bacteria. Căutând interrelația dintre infecțiile genitale cu *Chlamidia trachomatis* și atipiiile cervicale, găsesc diferențe, e drept, fără o semnificație statistică.

În Africa de Sud, incidența cancerului de col uterin este foarte mare (Doll, 1969; Robertson și colab., 1971), iar în secrețiile vaginale examinate frecvența flagelatului *Trichomonas vaginalis* este semnificativ crescută (aproximativ 45% din cazuri) (Allsbroock și colab., 1975). S-a pus între-barea dacă acest parazit are rol în apariția cancerului de col uterin.

Harrington și colab. (1973) arată pentru prima dată prezența dimetil-nitrozamnei în secreția vaginală la bolnavele cu cancer de col și *Trichomonas vaginalis*. Aceste date au fost confirmate și de Alsbrook și colab. (1975), care mai pun în evidență și dietil- și dipropil-nitrozamine și arată că dietilnitrozamina în secreție poate fi în cantitate de 600 μg/kg.

Flora vaginală este formată din germeni aerobi și anaerobi (Hurley și colab., 1974), din care predomină *Lactobacillus spp.* și streptococii, care însă lipsesc la persoanele purtătoare de *Trichomonas vaginalis*. Lactobacilii și streptococii, componentele dominante ale florei vaginale nu reduc nitratii, dar unii germeni, componenții minori ai florei vaginale ca micrococii sau enterobacteriile (*b. coli*, *b. proteus* etc.) sînt bogați în nitro-reductaze. Astfel, nitratii prezenți în secreția vaginală sînt reduși sub forma de nitriți de componenții minori ai florei, flora dominantă (lactobacilii) producînd acizi (acid lactic), care favorizează N-nitrozarea.

Această legătură între N-nitrozamine și cancerul de col este departe de a fi dovedit ca fiind cauzală. N-nitrozo compușii identificați în timpul diagnosticării cancerului de col pot avea rol promotor sau de inițiere. În perspectivă, trebuie urmărite 15—20 ani femeile cu infecții vaginale, deoarece prezintă un risc mult crescut de apariție a cancerului de col uterin.

12.1.1.2.7.

Bacteriile, estrogenii și cancerul de sîn

Se cunoaște faptul că factorii endocrini pot fi incriminați ca inițiatori și promotori în cazul cancerului de sîn la om. Au fost descrise tumori estrogen-dependente (Caldwell și colab., 1971) și în prezent este bine documentată afirmația că estrogenii pot să stimuleze dezvoltarea tumorilor mamare odată induse (King, 1971). De asemenea, s-a pus în evidență că estrogenii pot să inducă proliferarea celulelor tumorale (McMahon și Cole, 1969).

Incidența cancerului de sîn este mare în America de Nord și în nord-vestul Europei și este mică în Africa, Asia și America de Sud (Doll și colab., 1970). Epidemiologia cancerului de sîn este în strînsă legătură cu cea a cancerului colo-rectal (Drasar și Irwing, 1973). Se știe că regimul alimentar influențează semnificativ substratul intestinal, enzimele digestive și flora microbiană a intestinului gros. Hill a postulat că bacteriile biochimic active din flora intestinală pot să degradeze substratul din colon, producînd astfel substanțe carcinogene și cocarcinogeni (Hill și colab., 1971). Această ipoteză, for-

mulată inițial pentru o etiologie posibilă a cancerului colo-rectal, a fost modificată de Hill pentru explicarea cancerului de sîn (Hill și colab., 1971). La populația cu regim alimentar bogat în grăsimi, proporția bacteriilor anaerobe metabolic active care pot să descompună nucleul steroid este mare (Hill și Aries, 1971). Aceste populații secretă de asemenea cantități crescute de acizi biliari fecali, care servesc ca substrat bacteriilor metabolic active (Aries și colab., 1969). S-a demonstrat că estradiolul, estronele și 17-metoxi-estradiolul sînt produse *in vitro* din substratul din colon de flora intestinală și în special de *Clostridium paraputrificum*, germen anaerob foarte activ în dehidrogenarea nucleului steroid. Murray și colab. (1980) au studiat 30 de bolnave cu cancer de sîn și un grup control format din 36 de femei sănătoase. Au analizat acizii biliari fecali și au estimat activitatea de dehidrogenare a nucleului steroid de către bacterii (NDC — nuclear dehydrogenating Clostridia). La bolnavele cu cancer de sîn au găsit semnificativ mai scăzută concentrația în $\mu\text{mol/g}$ a acizilor biliari fecali totali (ABF). La bolnavele cu cancer de sîn NDC a fost prezent la 58% din cazuri, la grupul control numai la 15% din cazuri, valori foarte semnificativ diferite statistic. Descompunerea bacteriană crescută a acizilor biliari din intestinul gros poate să explice la bolnavele cu cancer de sîn concentrația redusă a acizilor biliari fecali. NDC crescut la bolnavele cu cancer de sîn, adică producerea semnificativă de estrogeni, sugerează că bacteriile pot să joace în anumite cazuri un rol ca inițiatori sau promotori în etiologia cancerului de sîn.

12.1.2.

Riscul infecției la bolnavii canceroși

Majoritatea bolnavilor cu cancer devin febrili la un anumit moment al evoluției bolii, în general manifestare a infecției, cauza fiind un microorganism obligatoriu sau condiționat patogen.

Infecția este implicată în episodul ultim fatal la aproximativ o treime din totalul bolnavilor canceroși și este un factor major în episodul final în aproximativ jumătate din cazuri. Infecția este de două ori mai importantă drept cauză de colaps fatal decît însăși masa tumorală. În cursul evenimentelor terminale infecția este dată de organisme Gram-negative, anaerobe sau de o ciupercă (Klastersky și colab., 1972).

Inagaki și colab. (1974) au raportat că infecția a fost explicația predominantă și imediată la 47% din 816 pacienți decedați, în timp ce 25% au decedat în urma nefuncționării unui organ, iar 10% din cauza carcinomatozei.

Bodey și colab. (1978) urmăresc infecțiile apărute la 494 de bolnavi cu leucemie acută, studiind grupuri de germeni. Din 884 de episoade febrile, numai la 6% erau răspunzătoare organismele Gram-pozitive, în primul rînd stafilococul aureu hemolitic (71%), *Corynebacterium ssp.* și pneumococul (*Diplococcus pneumoniae*) fiind găsite mult mai rar. Tipul de bacterie care poate să joace rolul cel mai important la leucemici este grupul bacililor Gram-negativi aerobi, răspunzători în 70% din cazuri din 884 de microorganisme identificate, determinînd infecții diseminate, pneumonii, infecții urinare, celulită etc. În privința frecvenței speciilor, pe primul loc se situează *Escherichia coli*, urmat de *Klebsiella ssp.* și *Pseudomonas aeruginosa* (bacil piocianic). La pneumoniile bacilare pe primul loc se situează speciile de *Klebsiella*, iar la infecțiile urinare imediat după bacil coli urmează speciile de *Proteus*. În ca-

zul septicemiilor, germenul cel mai des întâlnit este *Pseudomonas aeruginosa*, urmat de *E. coli* și grupul *Klebsiella* — *Enterobacter* — *Serratia*. În cazul infecțiilor cu mai mulți germeni, importanța majoră o au infecțiile duble cu *b. coli* — *Klebsiella*, *b. coli* — *b. piocianic* și *b. coli* — *Candida*.

Urmărind infecțiile la copii cu leucemie acută, Kemény (1977), arată că germenii cel mai des întâlniți și în acest caz sînt bacili aerobi Gram-negativi (*Pseudomonas*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Protens*, *Salmonella* și *Haemophilus influenzae*), iar din cocci Gram-pozitivi stafilococul aureu hemolitic, streptococi și pneumococi. Mai rar au fost izolați și germenii *Listeria monocytogenes* și *Serratia marcescens*. Infecțiile cele mai grave au fost provocate și în acest caz de *Pseudomonas aeruginosa*.

Cohen și colab. au urmărit deja în 1964 complicațiile infecțioase survenite după intervențiile chirurgicale și au observat că deși bolnavii canceroși reprezentau numai 24% din totalul bolnavilor urmăriți, ei au fost prezenți cu 31% din totalul infecțiilor.

Bagley și Ketsham (1978) au raportat că 60% din paciențele cu cancer de col uterin, au decedat în urma tratamentului chirurgical (exenterație pelvică) în perioada postoperatorie, datorită complicațiilor infecțioase.

Într-un studiu mai larg, Dionigi și colab. (1980) arată că infecția continuă să fie una din complicațiile fatale majore ale bolnavilor canceroși, în ciuda evoluției terapeuticii, care a făcut ca remisiunile să fie mult mai frecvente și a prelungit supraviețuirea. Există mai mulți factori care cooperează să predisună bolnavii canceroși la infecții. Unii din acești factori se corelează cu boala malignă existentă, cu masa tumorală, dar mai există și alți factori predispozanți: vîrsta, momentul și durata intervenției chirurgicale, gradul privațiunii nutritive și alterarea mecanismelor apărătoare, în funcție de tipul de cancer sau tratamentul medical sau chirurgical. Interacțiunea acestor factori, împreună cu schimbările florei microbiene (organisme oportuniste) fac ca bolnavii canceroși să aibă un risc mărit privind infecțiile. Din factorii predispozanți și determinanți ai infecției, pe primul loc se situează însăși boala malignă. Masa tumorală poate obstrucționa drenajul din arborele traheo-bronșic sau din tractul genito-urinar sau poate eroda vasele sangvine, provocînd o hemoragie extensivă și oferind teren favorabil infecției. Cu creșterea masei tumorale circulația nu mai poate face față, tumoarea devenind necrotică și suprainfectată. Tumorilor tractusului gastro-intestinal li se asociază de multe ori ulceratii, permițînd invazia florei intestinale. La bolnavii cu tumori abdominale pot să survină obstrucții ale tractului urinar, fiind necesară cateterizarea prelungită. Susceptibilitatea bolnavilor la infecții variază considerabil în funcție de tipul de boală. Bolnavii cu carcinom fac 2,5 episoade de septicemie la 100 de internări spitalicești, ceea ce este mai mult decît dublul frecvenței septicemiilor spitalicești. La bolnavii cu limfom și mielom multiplu însă, frecvența septicemiilor la 100 de internări este de 8,4, în timp ce la bolnavii cu leucemii de 45 de episoade. Pe lîngă acestea, canceroșii internați sînt supuși unor manipulări diagnostice sau terapeutice care alterează una din barierele cele mai importante în calea invaziei microbiene — tegumentul intact și mucoasele. În privința tipurilor și surselor de infecție se știe că bolnavii canceroși sînt mai susceptibili la anumite tipuri mai puțin comune de infecții. Organismele care dau infecția la bolnavii neoplazici în general se numesc „oportuniste” (Dionigi și colab., 1980). Aceste microorganisme sînt nepatogene, dar la bolnavii canceroși toate pot deveni potențial letale. Din acest punct de ve-

dere este foarte important să știm despre care din organisme putem presupune că vor da infecții, în așa fel ca bolnavul să poată fi tratat cât mai repede. Bacteriile cel mai frecvent întâlnite la bolnavii canceroși (Dionigi și colab., 1980), fac parte din următoarele grupuri: bacili Gram-negativi anaerobi, anaerobii, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Listeria* și *Mycobacterium tuberculosis*. În ultimii ani a crescut incidența infecțiilor cu germeni Gram-negativi la bolnavii spitalizați și s-a sugerat că aceasta poate fi corelată cu utilizarea antibioticelor, cu extensia intervențiilor chirurgicale noi și mai complexe și a metodelor diagnostice în cazul bolnavilor cu risc mărit și alți factori nosoconiali. S-a observat că la bolnavii cu boli hematopoietice și limforeticulare a crescut semnificativ numărul infecțiilor cu bacili Gram-negativi. Datele prezentate de Klastersky arată că 64% din episoadele de bacteriemie la bolnavi canceroși au fost provocate de bacili Gram-negativi. Cel mai frecvent au fost izolate tulpini de *E. coli*, *Klebsiella-Enterobacter* și *Pseudomonas*. Boala malignă este prominentă pentru infecții anaerobe și se pune un accent din ce în ce mai mare pe identificarea germenilor anaerobi. Martin (1974) arată că aceștia sînt prezenți la aproximativ 50% din toate produsele patologice recoltate la spital. Creșterea incidenței germenilor anaerobi se datorează nu numai ameliorării tehnicilor de laborator în anaerobioză, dar și menținerii îndelungate în viață și practicării intervențiilor chirurgicale pe organisme debilitate, cum ar fi organismele care prezintă un maximum de incidență a complicațiilor anaerobe (Bittner, 1977). Finegold (1971) arată că din 1927 de cazuri de infecții anaerobe, 211 (16%) au însoțit boli maligne. Aceeași asociere a fost notată în 23% din cazurile urmărite de Saksene (1968) și cel puțin 28% din cazurile raportate de Marcoux (1970). Kognoff și colab. (1972) arată că grupul *Bacteroides* este mai frecvent întâlnit în stările septicemice la canceroși, iar Wynne și Armstrong (1972) observă o mai mare frecvență a septicemiilor clostridiene la acești bolnavi. Sonnenwirth (1974) arată că intervențiile chirurgicale din ce în ce mai complexe pe organisme debilitate, în primul rînd la bolnavi canceroși, sînt factori predispozanți, iar în toate hemoculturile pozitive incidența anaerobilor poate fi peste 15%. Goodman (1974) arată semnificația predispoziției locale creată de boala canceroasă pentru infecția anaerobă prin prezența țesutului necrozat. Bittner și colab. (1977) urmăresc prezența bacilului *Bacteroides fragilis* în vaginul unor femei sănătoase sau cu diferite afecțiuni și găsesc o frecvență mai mare a acestui germen în cazul infecțiilor locale și neoplazice. O trecere în revistă a literaturii arată că 63% din infecțiile anaerobe la bolnavii canceroși sînt întâlnite în carcinomul de colon, uter și plămîn (Dionigi și colab., 1980). Bacteriile cu creștere intracelulară ca *Listeria monocitogenes* și speciile de *Salmonella* pot provoca infecții la bolnavi cu tumori solide și limfoame. Aproximativ 20% din infecțiile cu *Salmonella* se dezvoltă la bolnavii cu tumori intraabdominale sau cu metastaze hepatice (Louria și colab., 1967). Salmonellele pot fi de pneumonii, meningite, infecția plăgii, peritonită, osteomielită, infecții urinare sau septicemii. La bolnavi cu limfom este crescută frecvența infecțiilor date de *Listeria*, cel mai frecvent meningite, dar unii bolnavi aveau septicemii, revărsate pleurale infecțioase. Tuberculoza este frecventă la bolnavi cu limfom și leucemie, dar este greu diagnosticată clinic, bolnavii avînd adesea infecții larg diseminate. Alți factori predispozanți la infecții sînt gradul privațiunii nutriționale și alterarea mecanismelor de autoapărare. Din alterările imunologice putem aminti de-

fectele barierelor anatomice majore ale sistemului umoral, ale funcției fagocitare, ale imunității mediată celular și a răspunsului inflamator.

Recent, Armstrong (1980) arată că în ultimii 30 de ani s-a schimbat prea puțin tipul organismelor care infectează bolnavii cu boli neoplazice. Cel mai frecvent întâlnite organisme au fost și de această dată germenii *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, iar pe locul patru *Staphylococcus aureus*. În cursul anilor, creșterea incidenței infecțiilor cu *Candida* și *Aspergillus* și cu germeni din ordinul *Mucorales* reflectă probabil o supraviețuire mai mare a bolnavilor cu neutropenie datorită succesului tratamentului antibacterian. Recent au fost descoperiți numai câțiva agenți patogeni noi: *Legionella pneumophila*, *Corynebacterium sp.*, *Capnocytophaga ssp.* și *Trichosporum cutaneum* patogeni într-un număr mic de cazuri; probabil că vor fi fost prezenți și în alte cazuri, fără însă să fi fost identificați.

12.2.

Acțiuni favorabile

12.2.1.

Rolul infecțiilor bacteriene în terapia cancerului

Helen Coley Nauts de la Cancer Research Institute Inc. New York, într-o lucrare apărută în 1982, trece în revistă datele care ilustrează faptul că infecțiile bacteriene acute la bolnavii canceroși ar influența favorabil desfășurarea bolii și supraviețuirea, iar administrarea de vaccinuri bacteriene are efect mai bun decât infecțiile. Într-o altă monografie, apărută în 1980, autoarea a analizat 440 de cazuri cu infecție spontană sau provocată prin inoculare. Din aceste cazuri, aproximativ 250 au fost confirmate și histologic. Au fost aparent vindecate din ele 125, care au fost urmărite între 5 și 54 de ani. Printre insuccese, din 21 de supraviețuiri 5 au fost urmărite peste 30 de ani. Totodată, analizând 896 cazuri de cancer tratate cu vaccin bacterian mixt (mixed bacterial vaccines) folosit prima oară în tratamentul cancerului de William B. Coley în 1891, cu toxină mixtă extrasă din *Streptococcus pyogenes* și *Bacillus prodigiosus* (cunoscut azi sub denumirea de *Serratia marcescens*), arată o supraviețuire crescută și scăderea procentului de metastazare. Metoda este cunoscută sub denumirea de „toxin therapy”. Autoarea mai amintește că, datele epidemiologice din ultimii 50 de ani arată că în țările dezvoltate și în curs de dezvoltare incidența infecțiilor scade, iar incidența cancerului crește, comparându-se rata de mortalitate în cazul infecțiilor pulmonare și cancerul de plămân. Citează o lucrare veche a lui R. L. Smith, în care se compară incidența cancerului și bolilor infecțioase în mijlocul populației albă și indiană din Statele Unite și Canada și în care se arată că la populația indiană rata mortalității în cancer este mult mai scăzută, iar în cazul bolilor infecțioase și parazitare este de șase ori mai mare decât în cazul populației albe. Lucrând mai mulți ani în Kampala — Uganda, patologistul M. G. Lewis menționează frecvența scăzută a metastazelor în cazul melanomului în această țară, unde tumoarea primară este foarte des întâlnită. Amintește că la acești bolnavi leziunile au fost foarte des suprainfectate și ulcerate. În Germania, E. F. Huth a fost printre primii autori care raportează că infecțiile simultane pot să mărească supraviețuirea la bolnavii leucemici. B. Clarkson (1975) arată că bol-

navii cu leucemie acută vaccinați cu vaccin de *Pseudomonas aeruginosa* prezentau o revenire considerabilă față de martorii tratați numai prin chimioterapie. În cazul unor intervenții largi toracice H. C. Nauts citează mai mulți autori: Sensing, Cady, Takita, Moore etc., care au raportat o supraviețuire mai mare de 5 ani la bolnavii cu cancer de plămân la care postoperator a apărut empiemul.

Analizând aceste date, în afara lucrării lui H. C. Nauts nu am mai găsit altele care să afirme că infecțiile bacteriene acute la bolnavii canceroși ar influența favorabil desfășurarea bolii, supraviețuirea sau ar scădea metastazarea. Datele prezentate nu pot fi privite decât în mod critic. Ca material bibliografic sînt folosite în primul rînd lucrări proprii (aproximativ 50% din titluri), comunicări personale sau date vechi, între anii 1956—1958. Autoarea pornește de la ipoteza că orice agent care suprimă apărarea imunologică poate să ducă la o incidență crescută de cancer, în timp ce agenții care o stimulează, cum ar fi infecțiile bacteriene, pot micșora incidența și pot fi și modalități terapeutice în procesul malign. Corelarea incidenței cancerului cu incidența bolilor infecțioase și parazitare, sau cu utilizarea antibioticelor și antipireticelor este făcută însă în mod simplist. Se încearcă stabilirea unei corelații între infecțiile bacteriene și producerea de interferon, efectul pozitiv al febrei, respectiv al termoterapiei. Interesantă este ipoteza prin care Helen Coley Nauts presupune prezența fierului ca element indispensabil creșterii celulei tumorale. Bacteriile utilizează în mod competitiv fierul. Pornind de la această idee, încearcă să explice în parte incidența crescută în ultimii 20 de ani, cînd paralel cu eliminarea infecțiilor, adausul de fier extern s-a generalizat mult în țările dezvoltate. În cazul febrei provocată de infecțiile bacteriene se pune întrebarea în ce măsură poate să aducă plusuri față de hipertermia întregului corp.

12.2.2.

Oncoliza clostridiană

Legătura fundamentală dintre germenii anaerobi și țesutul canceros constă în faptul că acest țesut are o respirație anaerobă. Pe lângă acțiunile dăunătoare ca factori cancerigeni direcți (boala Whipple) sau indirecti (flora anaerobă intestinală), acești germeni pot să aibă și acțiuni favorabile în cazul oncolizei clostridiene atît în tratamentul, cît și în diagnosticul cancerului (Bittner, 1977).

12.2.2.1.

Oncoliza clostridiană în tratamentul cancerului

Cercetările datează încă din 1955, cînd doi cercetători, Malgren și Flanagan, injectează la șoareci cu ascită Ehrlich spori tetanici și pun în evidență germeul în țesutul canceros. În 1970, soții Möse repetă experiența și izolează o tulpină de *Clostridium butyricum* (M₅₅) nepatogenă, pe care o utilizează în experiențele ulterioare. Acțiunea oncolitică a sporilor se manifestă prin liza și golirea tumorii, în interiorul căreia apare forma vegetativă a bacteriei cu un număr foarte mare de germeni (Krampl, 1975). În ceea ce privește mecanismul oncolizei, Fischer-Breutner și Platzer (1975) au arătat că bacteria acționează prin producerea unor enzime numite kinaze, care descompun kini-

nele din țesutul canceros. Pentru țesuturile sănătoase, *Clostridium oncolyticum* M₅₅ este inofensivă, acțiunea fiind strict oncolitică. Acțiunea tulpinii se exercită atât asupra tumorilor experimentale, cât și asupra tumorilor umane. Rezultatele cele mai bune s-au obținut în cazul tumorilor închise (carcinoame). Administrarea germenilor se asociază cu antibiotice, deoarece liza tumorii care are loc la aproximativ 7 zile poate să provoace febră, leucocitoză și suprainfectare.

12.2.2.2.

Oncoliza clostridiană în diagnosticul cancerului

Pornind de la constatarea că sporii și formele vegetative au antigene diferite și sporii nu germinează niciodată la persoanele sănătoase, iar injectarea de spori la aceste persoane determină titruri slabe de anticorpi aglutinanți, în timp ce la bolnavii cancerosi se constată titruri mari, Kretschmer (1972) autoinoculează intravenos miliarde de spori și compară titrurile aglutinante obținute cu cele găsite la 14 bolnavi. Pe baza rezultatelor obținute ajunge la concluzia că această metodă ar fi un mijloc bun de diagnostic precoce al cancerului, mai ales în cazul tumorilor mici (Bittner, 1977).

Bibliografie

- ALLSOBROOK A. J. R., DUPLESSIS L. S., HARINGTON J. S., NUNN A. J., NUNN J. R. — N-nitroso-compounds in the environment, ed. P. Bogovski, E. A. Walker, 1975, p. 197, Lyon, IARC.
- ARIES V. C., CROWTHER J. S., DRASAR B. S., HILL M. J., WILLIAMS R. E. O. — *Gut*, 1969, 10, 331.
- ARMSTRONG D. — Infections in patients with neoplastic disease, in: "Infections in the Immunocompromised Host-Pathogenesis, Prevention and Therapy", North Holland Biomedical Press, J. Verhoef et al., editors, 1980.
- ÅSTEDT B., FURGYIK S., HANSSON H. — *Brit. Med. J.*, 1978, 15, 201.
- BARTHOLOMEW B., DARBAR R., HILL M. J. — *J. Med. Microbiol.*, 1979.
- BITTNER J. — *Viața med.*, 1977, XXIV, 515-522.
- BODEY G. P., RODRIGUEZ V., HUI-YEN CHANG, MARBONI G. — *Cancer*, 1978, 4, 1 610-1 622.
- BONE E. S., TAMM A., HILL M. J. — *Amer. J. Clin. Nutr.*, 1976, 29, 1 443.
- BOUTWELL R. K., BOSCH D. K. — *Cancer Res.*, 1974, 19, 413.
- BRYAN G. T. — *Amer. J. Clin. Nutr.*, 1971, 24, 811.
- CORREA P., HAENSZEL W., CUELLO C., TANNENBAUM S., ARSCHER M. — *Lancet*, 1975, 2, 58.
- DEMEREK M. — *Brit. J. Cancer*, 1948, 2, 114.
- DOLL R. — *Brit. J. Cancer*, 1969, 23, 1.
- DRASAR B. S., IRWING D. — *Brit. J. Cancer*, 1973, 27, 167-172.
- ENGLAND D. M., ROSENBLATT J. E. — *J. Clin. Microbiol.*, 1977, 6, 494.
- FISHER J. F., MALLATER M. F. — *J. Gen. Physiol.*, 1963, 45, 1.
- FIAUMENI J. F. — *Cancer Res.*, 1975, 35, 3437.
- HART J., MODAN B., SHANI M. — *Lancet*, 1971, 11, 1 151.
- HAWKSWORTH C. M., HILL M. J. — *Brit. J. Cancer*, 1971, 25, 520.
- HILL M. J., GODDARD P., WILLIAMS R. E. O. — *Lancet*, 1971, 11, 472.
- HILL M. J., DRASAR B. S., ARIES V. C., CROWTHER J. S., HAWKSWORTH G., WILLIAMS R. E. O. — *Lancet*, 1971, 95.
- HILL M. J. — The etiology of colon cancer, Critical reviews in toxicology, 1975, 4, 31.
- HILL M. J. — *Cancer*, 1975, 36, 2 387.
- HILL M. J., PATH M. R. C. — *Nutr.*, 1979, 33, 416-426.
- HILL M. J. — *Proc. Nutr. Soc.*, 1981, 40, 15.
- INAGAKI I., RODRIGUEZ V., BODEY G. P. — *Cancer*, 1974, 33, 568.
- KLASTERSKY I., DANEAN D., VEKEST A. — *Europ. J. Cancer*, 1972, 8, 149.

13.

Paraziții și cancerul

GEORGETA BOCȘAN

Cuprins

13.1. Introducere	— 437
13.2. Paraziți — agenți etiologici ai cancerului?	— 438
13.2.1. Protozoare	— 438
13.2.1.1. <i>Entamoeba dysenteriae</i>	— 438
13.2.1.2. Genul <i>Naegleria</i>	— 438
13.2.1.3. <i>Trichomonas vaginalis</i>	— 439
13.2.2. Helminți	— 439
13.2.2.1. Clasa Trematoda	— 439
13.2.2.1.1. Distomlenii (duvele)	— 439
13.2.2.1.2. Schistosomienii	— 440
13.2.2.2. Clasa Cestoda	— 443
13.2.2.3. Clasa Nematoda	— 443
13.3. Infecții parazitare la bolnavii de cancer	— 444

13.1.

Introducere

Relația neoplazii-parazitism a fost întrezărită încă din antichitate (car-kinos = rac).

Tumorele au fost privite ca paraziți datorită „autonomiei” lor, transmissibilității în unele cazuri și datorită altor raporturi dintre ele și „gazdă”, similare celor ale paraziților. În prezent, problema se pune pe planul „self” sau „non self”. Pentru a se dezvolta și a deveni invaziv, un neoplasm trece printr-o indiscutabilă și obligatorie perioadă „self”, ca să ajungă în etapa „non self”. Din păcate, singurele criterii pe baza cărora putem aprecia aceasta sînt „agresivitatea” și răspunsul gazdei pe plan histologic și imunologic (ultimul încă prea puțin cunoscut). În parazitismul adevărat, cel puțin pe un plan general, parazitismul se realizează în măsura în care este acceptat ca „self” (cazul paraziților strict specializați pe o singură gazdă).

Pe baza teoriei lui Virchow, a iritației prin diverși factori externi, primele încercări de transfer al cancerului s-au bazat pe ideea demonstrării cauzei sale parazitare (Eggers, 1931). Astfel, microorganisme patogene (virusuri, mycoplasme, bacterii, paraziți) găsite în tumori au fost incriminate ca avînd un rol direct sau ajutător în cancerizare printr-un efect imunosupresiv specific sau nespecific (Costăchel, 1973).

Fapte indiscutabile pledează pentru rolul paraziților ca factori de risc. Ei exercită asupra gazdei mai multe tipuri de acțiuni: spoliativă, toxică, traumatică, infecțioasă, iritativ-inflamatorie și mecanică. Față de acestea, organismul infestat răspunde prin reacții generale, celulare și umorale. În anumite cazuri, reacțiile celulare benigne (inflamatorii, hiperplazice și metaplastice), devin puncte de plecare pentru veritabile cancere de origine parazitara, care pot să dea metastaze și să fie transplantate în serie prin inoculare la animale (Brumpt E., 1949; Ungureanu, 1962).

Potrivit teoriei parazitare a cancerului, care a dominat de la sfârșitul secolului trecut până prin 1939—1940, aproape că nu există protozoar sau helmint care să nu fi fost bănuțit ca agent cancerigen (Eggers, 1931; Brumpt E., 1949; Ungureanu, 1962; Goetze, 1963). Literatură medicală veche abundă în astfel de cercetări și descoperiri, majoritatea din ele fiind ulterior infirmate. Totuși, unele au rezistat timpului și mai suscită și azi interesul.

13.2.

Paraziți — agenți etiologici ai cancerului?

13.2.1.

Protozoare

13.2.1.1.

Entamoeba dysenteriae

Entamoeba dysenteriae (Brumpt E., 1949; Păun L., 1979) determină apariția în intestinul gros a unor mase tumorale benigne voluminoase (granuloame amibiene, amiboame, al căror diagnostic se face doar prin evidențierea trofozoitilor în piesa de biopsie.

Reed și Anderson (1936) semnalează 4 cancere de intestin gros la subiecți cu dizenterie amibiană veche de 3—10 ani. Alcanfora (1974) descrie o asociere asemănătoare. Alți autori relatează despre cancere rectale la subiecți infestați cu acest parazit. Întrebarea care se pune este: amiba are rol cancerigen sau prezența ei și a cancerului este o pură coincidență?

13.2.1.2.

Genul *Naegleria*

Amibele din genul *Naegleria* (Mason, 1979) au fost identificate în toate țesuturile umane sănătoase, reumatice, neoplastice și în țesuturile neafectate ale bolnavilor de cancer.

Prezența în diferite organe a speciilor de *Naegleria*, saprofite sau patogene, determină, în special la subiecți genetic sensibili, o stimulare antigenică cronică. Ca urmare, apar infiltrații locale limfocitare și plasmocitare care se manifestă clinic sub formă de: colagenoze, tiroidită Hashimoto, alveolită fibrozantă criptogenetică, acanthosis nigricans, anemii hemolitice autoimune. Aceste boli autoimune declanșate de infecția amibiană sînt sensibile la substanțele anti-amibiene. Netratate, ele pot constitui stări paraneoplastice, care după un anumit interval de timp, prin persistența parazitului și

stimularea antigenică continuă, degenerază în limfoame, plasmocitoame, macroglobulinemie Waldenström.

Potrivit opiniei lui Mason (1979), genul *Naegleria* ar putea fi unul din factorii de mediu responsabili de multe din cele 90% cancere umane de etiologie necunoscută.

13.2.1.3.

Trichomonas vaginalis

Trichomonas vaginalis alături de alți agenți infecțioși, este bănuț ca agent etiologic al cancerului de col uterin (Alexander, 1973). Ipoteza se bazează pe asemănarea caracterelor epidemiologice ale infecției trichomonazice cu cele ale neoplasmului de col uterin. Unele studii arată o asocieră a acestei infecții parazitare cu hiperplazia și displazia cervicală uterină și uneori chiar și cu carcinomul invaziv. Pe de o parte se presupune implicarea cauzală a *Trichomonasului* în atipiiile citologice, iar pe de altă parte se pare că anomaliile nu sînt cu adevărat precanceroase, ele regresînd sub tratamentul parazitoei. Totuși, problema este încă departe de a fi elucidată, cancerul de col uterin fiind considerat o boală cu etiologie multifactorială.

13.2.2.

Helminți

13.2.2.1.

Clasa Trematoda

13.2.2.1.1.

Distomienii (duvele)

Pe baza a numeroase observații s-a pus problema rolului cancerigen al distomienilor, în special al celor cu localizare hepato-biliară: *Fasciola hepatica*, *Clonorchis sinensis* (duva de China) și *Opisthorchis felinus* (Eggers, 1931; Brumpt E., 1949; Larivière, 1970).

Mecanismul de acțiune ar fi următorul: epiteliul căilor biliare, iritat mecanic de vierme și toxinele acestuia, reacționează proliferînd intens. Canalul biliar se cudează și apare un manșon adenomatos vizibil macroscopic, pe secțiune, precum și numeroase neocanalicule biliare. În general, aceste tumori hiperplazice benigne rămîn limitate la membrana bazală a canalului biliar. În anumite cazuri, bazala se rupe și adenomul difuzează în parenchim, cavitatea tubilor dispăre și apare tumoarea malignă hepatică diseminată. Din punct de vedere histologic aceste neoplasme primare de iritație parazită, date în special de *Clonorchis sinensis*, sînt fie colangio-carcinoame, adică carcinoame cu punct de plecare căile biliare intrahepatice de ordinul 2, fie carcinom hepato-celular bine diferențiat, cu creștere și invadare lentă hepatică. Colangio-carcinomul a fost găsit la cîini și pisici care găzduiau *C. sinensis* și reproducerea lui experimentală pe animal a reușit. Carcinomul hepato-celular primitiv apare în multe articole sub denumirea de „hepatom”, cu mențiunea „neverificat histologic”. Printr-o procedură angiografică în

cursul autopsiei, Nakashima (1977) evidențiază leziuni primare foarte mici de carcinom hepato-celular în două cazuri în care ficatul prezenta modificări vizibile macroscopic date de *C. sinensis*.

Clonorchiaza este endemică în Asia de sud-est, Coreea și în câteva localități din Japonia. De asemenea, incidența cancerului hepatic primitiv este mare în Asia de sud-est. Deși date statistice corect întocmite și la zi în această problemă nu există, se pare că neoplasmul ficatului este la fel de frecvent în regiunile în care distomatozele hepatice sînt rare sau inexistente, ca de exemplu în Africa. În consecință, potrivit opiniei altor autori (Odt, 1927; Kouri, 1936; Hou, 1956), coexistența dintre clonorchiază și tumorile maligne hepatice ar putea fi doar o simplă coincidență.

Este cunoscută grefarea carcinomului hepato-celular pe leziuni cronice ale ficatului date de ciroza posthepatitică, sindromul Budd-Chiari, deficiența de alfa-antitripsină, alcoolism, hemocromatoză, thorotrast. Pe fondul proceselor distructive cronice apare o regenerare continuă și anarhică de hepatocite. O relație etiologică similară poate să existe și între clonorchiază și cancerul hepatic, datorită acțiunii iritative, toxice și inflamatorii cronice a parazitului asupra căilor biliare cu distrucție parenchimatooasă și regenerare anarhică hepato-biliară consecutivă.

Cunoscut numai la câini, sarcomul esofagian, datorat infestației cu *Spirocerca lupi* nu este altceva decît transformarea sarcomatoasă a granuloamelor pe care parazitul le induce în peretele esofagului. Tumoarea este capabilă de metastazare. Pentru că distribuția geografică a tumorii nu coincide perfect cu cea a parazitului, s-a emis ipoteza participării și a unui alt factor, posibil viral (Ghergariu, 1981).

13.2.2.1.2.

Schistosomienii

Schistosomienii, agenți etiologici ai schistomiazii (bilharziozei) sînt reprezentați prin 3 specii cu proprietăți cancerigene mult discutate:

- a) *Schistosoma haematobium* → schistosomiaza vezicală
- b) *Schistosoma mansoni* → schistosomiaza intestinală
- c) *Schistosoma japonicum* → schistosomiaza arterio-venoasă sino-japoneză.

a) *Schistosoma haematobium*. De mai mult de un secol este cunoscută relația dintre infecția cu *Sch. haematobium* și cancerul vezicii urinare. O atestă numeroase comunicări și studii apărute în acest sens: Conenon (1881), Kartulis (1885), Virchow (1888), Boolby (1889), Harrison (1889), Fergusson (1911), Sorour (1929), Eggers (1930), Brumpt E. (1930), Brumpt L. (1970), Beck (1971), Wynder (1977), Tischler (1977), Sadeghi (1978), Wildführ (1978), Nitzulescu (1979).

Asociația frecventă dintre infecția cu *Sch. haematobium* și neoplasmul vezicii urinare, incidența mare a acestui cancer în anumite arii endemice de schistosomiază și morfologia lui distinctă, au determinat pe cercetători să postuleze la începutul acestui secol legătura cauzală schistosomiază — cancerul vezicii urinare în Egipt.

Degenerescența canceroasă a polipilor vezicali bilharzieni determinați de *Sch. haematobium* a suscitat numeroase discuții și controverse. Statisticile

arată o frecvență mult și proporțional crescută (10 ori) a cancerului vezicii urinare în zonele în care această parazitoză este endemică (Egipt, Mozambic).

În Egipt, schistosomiaza este endemică, atât bărbații cât și femeile fiind expuși în mod egal la infestație prin ocupația lor de bază, munca câmpului. Trupele lui Napoleon spuneau referindu-se la Egipt „țara cu bărbați menstruanți” pentru că hematuria din cistita schistosomială era atât de obișnuită, încât trecerea sîngelui în urină era socotită un indicator al pubertății (Cheever, 1978). În această țară, cancerul vezicii urinare este de 11 ori mai frecvent decît în celelalte ținuturi de pe glob (Brumpt E., 1949; Brumpt L., 1970); reprezintă 20% din neoplasme (Tischler, 1977) și este cea mai comună formă de tumoare malignă la bărbați (Wynder, 1977). Vîrful de vîrstă la care cancerul vezical apare în Egipt este cu 10 ani mai mic la purtătorii de *Sch. haematobium* decît la cei neparazitați. M. A. Makhyoun și colab. (1971), citați de Nitzulescu (1979), consideră că media de vîrstă a bărbaților cu schistosomiază și cancer de vezică este 47,3 ani iar media de vîrstă a celor cu cancer vezical fără schistosomiază 54,7 ani. Pentru femei aceste vîrste devin 41 ani și respectiv 57,5 ani.

Realitatea unui cancer bilharzian al vezicii urinare este fondată pe constatări anatomo-patologice și argumente statistice. I-au fost atribuite și unele caracteristici: apare la indivizi relativ tineri (47 ani), rareori pornește din trigon, tipul histologic este cu celule scuamoase. Deși cunoștințele privind morfologia și comportarea acestor tumori au evoluat foarte mult, studiul legăturii cauzale n-a mai progresat. Au rămas multe puncte neelucidate definitiv în relația etiologică schistosomiază urinară — cancerul vezicii urinare:

— asocierea apare în special în anumite regiuni geografice, cum este Egiptul, ca și cum ar ține de acțiunea unor anumite tulpini de paraziți găsite acolo. Mai mult chiar, corelația nu a fost confirmată în unele arii neendemice, unde cancerul vezical urinar este probabil determinat de alți factori, coexistența celor două afecțiuni fiind considerată doar o simplă coincidență;

— tipul histologic al neoplasmului vezicii urinare din regiunile cu schistosomiază endemică (Egipt) este carcinomul cu celule scuamoase, iar în ținuturile neendemice tumoarea malignă cu celule de tranziție (Wynder, 1977; Păun, 1979);

— asupra mecanismului de producere a cancerului vezicii urinare de către *Sch. haematobium* există mai multe păreri:

• în articole mai vechi, Kartulis (1885), Fergusson (1911), Sorour (1929) și Eggers (1930) susțin că apariția tumorii maligne se datorește acțiunii directe și indirecte asupra peretelui vezical a ouălor acestui trematod, care exercită un efect iritativ local și de blocare a vaselor sangvine și limfatice (Eggers, 1931). Unii vorbesc chiar de prezența unor substanțe carcinogene în ouăle de *Schistosoma*;

• Woodruff și colab. consideră că procesul neoplazic se dezvoltă fie printr-un proces reparator care trece dincolo de limitele normale și provoacă hiperplazia și metaplazia țesuturilor, fie ca urmare a acțiunii unor substanțe cancerigene apărute pe fondul unor procese septice, într-o urină cu alcalinitate crescută și favorizate de staza urinară, inflamația și microulcerările mucoasei vezicale. S-a observat că la cei cu schistosomiază urinară apar în urină cantități mari de beta-glucuronidază, nivelul enzimei fiind cel mai ridicat în schistosomiaza complicată cu neoplazie. Betaglucuronidaza clivează glucuronidele, transformându-le din produse chimice primare nevătă-

mătoare în substanțe cancerigene. În cazul deficiențelor nutriționale, ca de exemplu lipsa vitaminei B6, metaboliții trimptofanului cu rol carcinogenic nu pot fi reduși în produși inofensivi (Nitzulescu, 1979). Infecțiile urinare sînt frecvente la bolnavii cu schistosomiază, în special la cei spitalizați și supuși manoperelor instrumentale. Interacțiunea bacteriilor din urină cu nitriții excretați poate să ducă la formarea de nitrozamine cancerigene (Cheever, 1978);

- se discută și despre efectul infecției schistosomiale asupra sistemului imun. Infecția persistentă, cu eliberare continuă de ouă și metaboliți în circulație determină o stimulare imună cronică, dar și o imunodepresie specifică față de paraziți și ouăle lor;

- papiloamele apărute în alte organe, ca de exemplu în colon, n-au tendință la cancerizare și deci se pare că neoplasmul vezical bilharzian ține de cauze intrinseci ale vezicii urinare și nu atît de toxina parazitara (Nitzulescu, 1979);

- severitatea infecției cu *Sch. haematobium* diferă de la o țară la alta și de la o arie la alta în aceeași țară. Se pare că tulpinile de *Sch. haematobium* au comportare diferită. Nu se știe încă dacă există diferențe genetice la bolnavii cu carcinom vezical și nici rolul diferitelor tulpini de *Sch. haematobium* în producerea acestui tip de neoplasm;

- nu s-a găsit încă un model experimental corespunzător pentru cancerul vezical schistosomial. La hamsterul auriu sirian interesează variat și înconstant vezica, alte rozătoare nu s-au pretat, iar pe maimuță nu s-a putut reproduce exact tumoarea umană.

b) *Schistosoma mansoni*. Tischler afirmă în 1977 că parazitul, pe lîngă bilharzioza intestinului gros cu scaune muco-sangvinolente, mai dă uneori cancere rectale și leziuni hepatice.

Mott (1978) atrage atenția asupra dovezilor epidemiologice pentru asocierea dintre schistosomiaza intestinală și carcinomul hepatic. În țări cu neoplasme ale ficatului asociate cu bilharzioză s-a găsit frecvent cancer hepatic primitiv pur.

Date experimentale (Bueding, 1980) arată că infecția, mai precis proliferarea hiperplazică hepatică, ca răspuns la depunerea ouălor de *Schistosoma*, crește susceptibilitatea celulei hepatice față de carcinogen și în plus, poate să acționeze ca promotor. Schistosomiaza intestinală nu este cancerigenă prin ea însăși; ea stimulează proliferarea celulei hepatice, făcînd-o sensibilă la acțiunea carcinogenilor din mediu.

Sch. mansoni induce polipi inflamatori ai colonului. În Egipt, bilharzioza intestinală este foarte frecventă, dar neoplasmul rectal este rar; deci nu putem acorda un rol favorizant parazitoei.

c) *Schistosoma japonicum*. Ouăle acestui parazit au fost izolate din porțiunile centrale ale unor sarcoame, carcinoame rectale sau din alte cancere intestinale (Brumpt E., 1949, Brumpt L., 1970). Yamagi comunică în 1911 un caz de neoplasm hepatic la un om infectat cu *Sch. japonicum*. Alți autori japonezi și chinezi (Chen și colab., 1965) admit transformarea canceroasă a leziunilor colonului și rectului, determinată de acest trematod.

Au fost atribuite schistosomiei și alte neoplazii: limfom giganto-folicular, tumori limfo-reticulare, reticulo-sarcom, cancer de ovar, uter, toate dovedindu-se în cele din urmă simple coincidențe (Cheever, 1978).

Se vorbește chiar de unele efecte carcinogene ale medicamentelor utilizate în tratamentul schistosomiazii: Hycanthon și Niridazol. Aceste preparate se folosesc totuși pentru că sînt eficiente și au o toxicitate imediată redusă.

13.2.2.2.

Clasa Cestoda

Hidatidoza alveolară sau bavaro-tiroliană dată de stadiul larvar de *Echinococcus multilocularis* a fost mult timp confundată cu „Cancerul gelatinos” (Lupașcu, 1968).

13.2.2.3.

Clasa Nematoda

A. Borrel a arătat prin numeroase date de patologie comparată rolul determinant al diferitelor cestode și nematode în producerea de cancere la rozătoare și cai (Brumpt E., 1949, Ungureanu, 1962). Cercetările experimentale ale lui Fibiger (1913—1920), apoi cele ale lui Bullock și Curtis (1921) au demonstrat justetea ipotezelor lui Borrel.

Fibiger (Brumpt, 1949; Eggers, 1931), anatomo-patolog danez, a fundamentat experimental încercările de demonstrare a cauzalității parazitocancer, care pînă la el păreau doar simple coincidențe. Cu excepția celui al lui Marie Clunet și Rauder Lapointe, de producere a tumorilor maligne cu ajutorul razelor X, care de fapt este o repetare experimentală a datelor deja clinic dovedite, experimentul lui constituie prima încercare reușită de inducere strict de novo a cancerului. Fibiger a demonstrat că neoplasmul gastric și carcinomul limbii șobolanilor din depozitul unui magazin alimentar din Copenhaga se datorește infestării rozătoarelor cu un mic nematod *Gongylonema neoplasticum*, denumit de el *Spiroptera neoplastica*. Gazda intermediară a viermelui a fost un gîndac de bucătărie (*Blatta*) de origine americană, transportat la acest depozit cu mărfurile aduse cu vaporul. Hrănind șobolanii cu gîndaci de bucătărie infestați în prealabil cu parazitul în cauză (gîndacii uneori găzduiau și spontan nematodul), după un interval de timp, pe mucoasa gastrică a 53% din șobolani s-a dezvoltat o tumoră cu o structură pur epitelială carcinomatoasă. Dacă parazitul s-a localizat în limba animalului, s-a instalat o glosită descuamativă, care a degenerat în carcinom în 2,5% cazuri. Tumorile au putut fi inoculate în serie și dădeau metastaze. Experimentul a demonstrat indubitabil legătura dintre hrană și parazit și dintre parazit și cancerul gastric la șobolan.

Aceste nematode au arătat o acțiune iritantă specifică atît de organ (esofagul nu a putut fi cancerizat), cît și de specie animală (șoarecele alb, șobolanii în general erau sensibili, pe cînd iepurele, șobolanul cenușiu și șoarecele cenușiu s-au dovedit mai refractari la tumorile maligne induse de *G. neoplasticum*) și de specie a parazitului (*Trichosoma gastrica*, ce trăiește în mucoasa gastrică în aceleași condiții cu *Gongylonema*, nu dă decît foarte rar iritație malignă). S-a observat de asemenea că nu procesele inflamatorii, ci parazitul însuși induce carcinomul. Unii autori au criticat experiențele lui Fibiger, arătînd că leziunile șobolanilor s-ar datora carentei de vitamine. Brumpt E. (1930) a observat la Caracas un cancer spirop-

terian adevărat și numeroase adenoame precanceroase la șobolanii cenușii care trăiau în depozitele magazinelor alimentare și nu duceau lipsă de vitamine.

Mecanismele prin care paraziții induc formarea de tumori sînt neclarificate (Eggers, 1931). Experiențele au arătat că rolul carcinogen al anumitor helminți se datorește acțiunilor lor iritativ-inflamatorie și toxică, comparabile cu cele ale gudronului, benzpirenului, și ale altor substanțe chimice. Dar, în timp ce unii, ca de exemplu *Gongylonema* induc prin acest mod de acțiune tumori maligne care persistă și metastazează, alții, de aceeași dimensiune, cu efecte directe similare, ca de exemplu, *Trichodele*, nu induc decît foarte rar cancer.

Corelația etiologică paraziți-cancer a mai fost pusă pe seama transferului de către paraziți a unor factori filtrabili (Mercer, Lebailly) sau pe seama unor produși metabolici parazitari (Saul, 1915). Flury și Leeb au atras atenția asupra faptului că metabolismul distomienilor este de tip anaerob, ca și al tumorilor. S-a discutat și se discută mult despre un mecanism parazitar de deprimare a imunității celulare și umorale.

Aceste numeroase și ingenioase observații și experiențe, au entuziasmat la timpul lor lumea medicală, pentru că impuneau în etiologia unor forme de cancer anumite infecții evitabile. Adept al teoriei parazitare pentru unele tipuri de tumori maligne, Brumpt E. propunea în 1949 aplicarea unei igiene riguroase pentru înlăturarea a cel puțin unei părți din agenții care provoacă anarhia celulară.

Deși se citează numeroase dovezi că paraziții de un tip sau altul pot induce un cancer care persistă, metastazează și poate fi inoculat experimental în serie chiar și după moartea agentului etiologic producător, există puține date care să indice că un astfel de parazitism joacă un rol important în determinismul tumorilor maligne umane. Helminții și alți paraziți mari joacă doar un rol ocazional și induc doar unele forme de neoplasme. Transmiterea cancerului de la un individ la altul constituie mai degrabă o excepție decît o regulă. Chiar și organisme care au fost considerate cărași obișnuiți de malignitate de la o persoană la alta nu au putut fi demonstrate în acest sens, pentru că tocmai descoperitorii lor le-au găsit în mai puțin de $1/2$ din tumorile examinate (Eggers, 1931).

În afară de corelația existentă în Egipt dintre schistosomiaza urinară și neoplasmul vezicii urinare, raportul paraziți-cancer pare să fie mai mult favorizant decît cauzal direct.

13.3.

Infecții parazitare la bolnavii de cancer

Infecția continuă să fie una din complicațiile fatale majore ale bolnavilor de cancer, în ciuda noilor progrese terapeutice care au crescut frecvența remisiunilor și au prelungit supraviețuirea (Dionigi, 1980). Inagaki și colab. au arătat că infecțiile au fost cauza predominantă și imediată de moarte la 47% din 816 bolnavi; 25% au decedat cu insuficiențe organice și 10% prin carcinomatoză.

Majoritatea infecțiilor la aceste gazde imunodeprimare sînt bacteriene. În ultimul timp, în literatura medicală se consemnează frecvent infecții parazitare. Acest lucru nu se datorește unei creșteri reale a incidenței lor, ci posibilităților perfecționate de identificare (Armstrong, 1980).

Pneumocystis carinii este un protozoar care colonizează precoce o mare proporție de persoane sănătoase în timpul vieții, dar se manifestă doar în caz de apărare compromisă. Infecția cu *Pn. carinii* este cauza cea mai obișnuită de pneumonie interstițială difuză la bolnavi cu limfom hodgkinian, mielom multiplu, diferite tumori solide, leucemii în remisiune sau sub chimioterapie prelungită (Păun, 1979; Sommers, 1975; Vildé, 1979).

Toxoplasma gondii dă infecții frecvente la bolnavii imunodeprimați sau aflați sub tratamentul imunosupresiv intens. Infecțiile pot fi primare sau reactivări ale unor infecții latente. Se manifestă sub diferite forme clinice: stomatite, faringite, infecții ale sistemului nervos central, retinocoroidită, uveită posterioară, pneumonii, infecții ale pielii, septicemii (Vietzke, 1968; Vogel, 1969; Vatopoulou, 1980). Ca evoluție clinică variază de la forme fulminante fatale pînă la infecții mai puțin severe, confundabile cu mononucleoza infecțioasă (Healy, 1979 și Stewart, 1981).

S-au descris infecții posttransfuzionale sau postsplenectomie în boala Hodgkin cu specii ca *Plasmodium* sau *Babesia* (Armstrong, 1980).

Strongyloides stercoralis determină un „sindrom de hiperinfecție” la bolnavii cu limfoame, leucemii și alte boli, în care se administrează tratament cortico-steroid. Acest sindrom constă într-o gastro-enterită blîndă pînă la ileus paralytic asociat cu simptome pulmonare și ale SNC. Diagnosticul este septicemie polimicrobiană la un bolnav cu hipersensibilitate întîrziată sever alterată datorită corticosteroizilor. Mai poate da: infecții ale SNC, pneumonii, infecții gastro-intestinale, infecții intraabdominale (Armstrong, 1980).

Deși mai puțin frecvente decît infecțiile bacteriene, infecțiile parazitare sînt mai redutabile, datorită apărării compromise a gazdei, lipsei unui tratament specific eficient și, în majoritatea cazurilor, datorită întîrzierii stabilirii diagnosticului.

Bibliografie

- ALEXANDER R. E. — *Cancer Res.*, 1973, 33, 1 485—1 590.
 ARMSTRONG D. — *Infections in Patients with Neoplastic Disease*. Elsevier/North Holland Biomedical Press, *Infections in the Immunocompromised Host — Pathogenesis, Prevention and Therapy*, J. Verhoef et al., editors, 1980, p. 129—158.
 BECK J. V., CONNOR E. B. — *Medical parasitology*, C. V. Mosby Co., St. Louis, 1971, 161.
 BRUMPT E. — *Précis de parasitologie*, Ed. VI-ème, Masson et Cie, Paris, 1949, 63—69, 212, 621—626.
 BRUMPT L. — *Rev. Prat.*, 1970, 20, 5—25.
 BUEDING E., FARBER E., SARMA D. S. R. — *Schistosomiasis and cancer*. Transactions of the Society of Tropical Medicine and Hygiene, 1980, 74, 1, Correspondence 284.
 CHEEVER A. W. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1978, 61, 1, 13—18.
 COSTĂCHEL O. — *Depistare și diagnostic precoce în cancer*, Ed. medicală, București, 1973, p. 9.
 DIONIGI R., DOMINIONI L., CAMPANI M. — *Surg. Clin. N. Amer.*, 1980, 60, 1, 145—159.
 EFSTRATIADOU M., TARNVAKOPOULOU E. — *Presence of Trichomonas in Cytologic Smears positive for malignancy (Protozoa of Medical Importance)*, Proceedings 9-th National Congress on Bacteriology, Athens, 1980, p. 229—230.
 EGGERS H. E. — *Arch. Parasitol.*, 1931, 12, 983—1 014.
 GOETZE E. — *Fiziopatologie*, Edit. Med. București, 1963, 174—175.
 HEALY G. R., JURAWEK D. — *Parasitic Infections, Foodborne infections and intoxications*, 2nd, ed. 1979, Academic Press, Inc. 375.
 LARIVIÈRE M. — *Rev. Prat.*, 1970, 20, 45—59.

14.

Micoze, micotoxine și cancer

ADELA BARA ● CARMEN STUGREN

Cuprins

- 14.1. Caracteristicile mucegaiurilor — 447
- 14.2. Micozele — 448
- 14.3. Micotoxicozele — 448
- 14.4. Micotoxine cancerigene — 449
 - 14.4.1. Aflatoxinele — 449
 - 14.4.2. Sterigmatocistina — 453
 - 14.4.3. Patulina — 454
 - 14.4.4. Ochratoxina — 455
 - 14.4.5. Luteoskirina — 455
 - 14.4.6. Islanditoxina — 456
 - 14.4.7. Griseofulvina — 456
 - 14.4.8. Acidul kojik — 456
 - 14.4.9. Acidul penicilic — 457
 - 14.4.10. Zearalenona — 457

Se știe că există virusuri care au o acțiune cancerigenă sigură, inducând tumori la animale și om, dar nu se cunoaște suficient contribuția ciupercilor (mucegaiurilor) în acest domeniu. Cercetările din ultimii ani au căutat să elucideze cauzele care au dus la îmbolnăvirea și moartea păsărilor de curte hrănite cu făină de arahide mucegăită, îmbolnăvirea vitelor, iepurilor și cailor hrăniți cu furaje mucegăite sau îmbolnăvirea și moartea păstrăvilor din crescătorii, soldată cu pierderi economice însemnate. Un exemplu elocvent îl constituie observația făcută de medicul veterinar Blound în 1960, care a constatat că peste 100 000 de pui de curcă dintr-o fermă din Anglia au murit în urma hrănirii lor cu făină de arahide mucegăită. Acestei boli i s-a dat numele de „Turkey X Disease” (boala X a curcanilor) (7). Ulterior s-a descoperit legătura dintre gravele intoxicații hepatice sau cancerul hepatic pe de o parte, și acțiunea anumitor mucegaiuri din alimente pe de altă parte.

14.1.

Caracteristicile mucegaiurilor

Mucegaiurile sînt cuprinse în marea grupă a ciupercilor (funghi) care sînt lipsite de cloroplaste, fiind astfel incapabile să asimileze carbonul din

atmosfera. Din această cauză ele trăiesc fie pe diverse materii organice în descompunere, bogate în polizaharide și cu o ușoară reacție acidă (ciuperci saprofite), fie pe țesuturile sau în țesuturile viețuitoarelor (ciuperci parazite). Majoritatea fungilor au un corp vegetativ-miceliul-format din filamente subțiri numite hife. Ca produs de rezervă celula fungilor acumulează glicogenul.

Modul de viață, rezistența mare la condițiile climaterice și cerințele puțin pretențioase pentru dezvoltare fac ca ele să fie ubicuitare. Trăiesc pe diferite substraturi, la temperaturi cuprinse între -20°C și $+50^{\circ}\text{C}$ la umidități variate. Acțiunea lor se manifestă în primul rând prin alterarea unor cantități mari de alimente, care se cifrează anual la 20% din totalul produselor.

O problemă importantă în medicina umană și veterinară o constituie bolile date de aceste ciuperci, și anume: micozele sau infecțiile fungice, alergiile, micotoxicozele.

Din aceste trei grupe de boli ne vom ocupa numai de micoză și micotoxicoze.

14.2.

Micozele

Infecțiile micotice sau micozele se caracterizează prin invadarea țesuturilor sau organismelor vii cu mușgaiuri, putând să pătrundă direct într-un organ (infecție primară) sau să invadeze organele în urma unei leziuni (infecție secundară). Studiul epidemiologiei micozelor este legat de stabilirea cauzalității care stă la baza apariției și dinamicii evolutive a afecțiunilor. Un organism debilitat, cu mecanisme de apărare compromise, este predispus la diferite infecții, mai frecvent bacteriene, dar și micotice. Diferite studii au arătat că infecțiile fungice survin cu o frecvență crescută la bolnavii cu cancer, în mod deosebit la leucemici, datorită unei imunități puternic deprimată. Candidoza este cea mai obișnuită infecție micotică la bolnavii cu cancer, produsă de *Candida albicans* sau de alte specii de *Candida* (8). Într-un studiu făcut pe 884 de bolnavi leucemici, fungii au fost cauza a 57% din infecțiile gastrointestinale, 12% pneumonii și 4% infecții diseminate. Din totalul infecțiilor fungice, 33% au afectat plămânul dând pneumonii, 31% au dat infecții gastrointestinale și 28% infecții diseminate. Aproape toate infecțiile micotice asociate leucemiei au fost determinate de *Candida spp.* (între 20% și 40% din infecțiile letale), dar s-au diagnosticat și un număr mic de cazuri de aspergiloză, mucormicoză și criptococoză (8). Una din manifestările diseminate cu *Candida spp.* este și endocardita, care, deși rară, apare la bolnavii cu neoplazii maligne (19).

14.3.

Micotoxicozele

Grupul cel mai important de îmbolnăviri îl constituie însă micotoxicozele. Caracterul diferențial fundamental dintre micoze și micotoxicoze este faptul că micotoxicozele nu sînt nici infecțioase, nici contagioase, iar

agentul poluant — mucegaiul — care se dezvoltă în condiții favorabile pe substraturi propice, produce metaboliți toxici.

În cele mai multe cazuri mucegaiurile producătoare de toxine se dezvoltă pe produse alimentare. Toxina difuzează, în general, în interiorul produsului, putînd să dea intoxicații chiar dacă ciuperca nu mai este prezentă. Astfel de intoxicații sînt observate la animalele și oamenii care consumă făină obținută din grîne mucegăite (4).

Intoxicații cu mucegaiuri date de agenți diferiți pot să aibă simptome identice. Uneori aceeași intoxicație survine prin participarea mai multor agenți. De aceea este greu să se clasifice micotoxicozele pe baza principului cauză-efect, motiv pentru care s-a recurs la o clasificare arbitrară, în funcție de gradul de intoxicare:

- intoxicație ușoară,
- intoxicație și leziuni ale ficatului,
- acțiune toxică asupra sîngelui și vaselor sangvine,
- intoxicația sistemului nervos.

Producerea metabolismului toxic de către diferite mucegaiuri și gradul de toxicitate depind de factorii de mediu: substrat, temperatură, umiditate. Cercetările din ultimii ani și-au îndreptat atenția tocmai asupra gradului de toxicitate a metaboliților extrași din diverse ciuperci, testîndu-se și acțiunea lor posibil cancerigenă, metaboliți numiți micotoxine.

14.4.

Micotoxine cancerigene

Micotoxinele sînt metaboliți ai fungiilor cu structură chimică mai mult sau mai puțin cunoscută, produși de diverse genuri și specii de mucegaiuri, care au capacitatea de a modifica structuri biologice normale și care au efecte degradante atît la om, cît și la animale, plante și bacterii. Acești metaboliți pot fi conținuți în sporii fungilor, în miceliul lor, sau de cele mai multe ori sînt excretați în mediul de creștere. Pe lîngă micotoxinele obișnuite cunoscute de om au fost puse în evidență prin metode speciale de obținere micotoxine noi, unele din ele avînd o acțiune sigur cancerigenă. Cei mai importanți metaboliți fungici cu cele mai active principii biologice și cu efect cancerigen sînt aflatoxinele obținute pentru prima dată din mucegaiul *Aspergillus flavus* Link (3, 4, 14, 17).

14.4.1.

Aflatoxinele

Aflatoxinele sînt un grup de substanțe înrudite cu difurocumarinele, izolate din specia de mucegai *Aspergillus flavus*, specie de la care-i derivă numele. Acești compuși au fost izolați din făina mucegăită de arahide (5), ca urmare a izbucnirii unei boli de ficat apărută în Anglia în 1960 la curcani, fazani, porci și viței hrăniți cu acest furaj. Interesul mare pentru acești compuși a fost stimulat de observația că sînt cancerigeni la mai multe specii de animale și că pot fi prezenți și în cîteva alimente.

Inițial au fost izolate 4 aflatoxine (14, 22) cărora li s-a determinat structura chimică și au fost denumite B (blue) de la fluorescența albastră

pe care o emit în lumină ultravioletă, respectiv G (green) de la fluorescența verzuie, iar în funcție de originea apariției pe cromatografie în strat subțire s-au împărțit în aflatoxine B₁, B₂ respectiv G₁, G₂. Aflatoxinele B₁ și G₁ există în cantități mari, în timp ce derivații lor dihidro, B₂ și G₂ în cantități mai puțin importante.

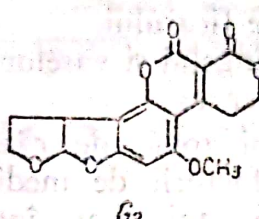
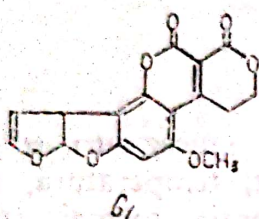
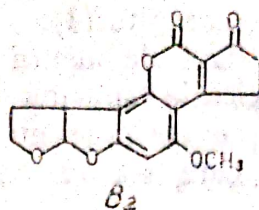
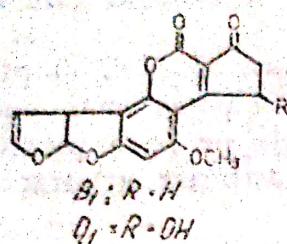
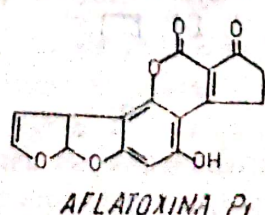
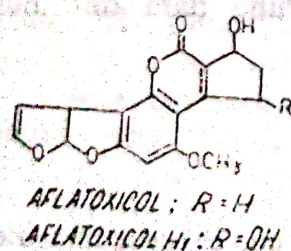
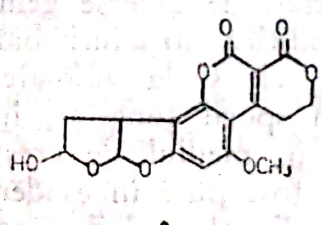
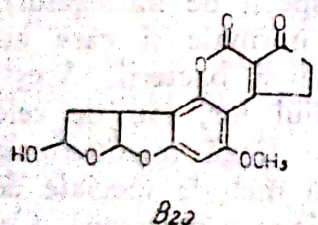
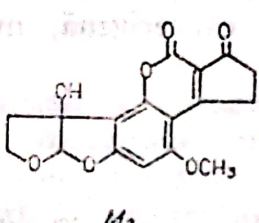
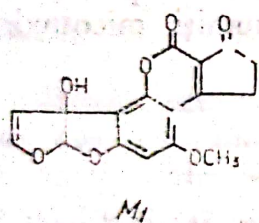


Fig. 14.1. — Formulele structurale ale principalelor aflatoxine. (22, 29)



Cea mai importantă este aflatoxina B₁, fiind cea mai toxică, cea mai cancerigenă și în același timp cea mai răspândită. O atenție deosebită se acordă aflatoxinei M₁, care deși sintetizată în cantități mici de mușcagari este un produs de metabolizare a aflatoxinei în organismul animal, excretându-se prin lapte, de unde derivă numele (Milk) (11).

Aflatoxinele sînt substanțe cristaline alb-gălbui. În U.V. emit fluorescență albastră sau verzuie; toate prezintă absorbție la 363 nm. Sînt inso-

lubile în apă și solvenți nepolari, ușor solubili în solvenți polari. Relativ instabile la lumină și aer.

Răspîndire. Izbucnirea bolii de ficat la păsări atribuită aflatoxinelor a fost corelată cu făina de arahide (21). Investigații ulterioare au arătat că toxina se poate produce pe un număr mare de substraturi, ca semințe de bumbac, porumb, orez. Temperatura optimă de creștere a liniilor de *Aspergillus flavus* producătoare de aflatoxine este de 30°C la o umiditate relativă de 75% sau mai mare (9, 18).

În afara liniilor de *Aspergillus flavus* mai au capacitatea de a produce aflatoxine unii fungi ca: *Aspergillus parasiticus*, *A. niger*, *A. ruber*, *A. wentii*, *A. spp.*, *Penicillium puberulum*, *P. frequentans*, *P. citricum*, ș.a. (22), în condiții de temperatură și umiditate corespunzătoare, avînd ca substrat nu numai arahidele, ci și toate plantele oleaginoase. Speciile de mușegai care produc aflatoxine sînt răspîndite ubicuitar, exceptînd zonele de climă rece ca nordul Europei și Canadei. S-ar părea că aproape toate alimentele stocate în condiții de temperatură și umiditate pot fi contaminate cu aflatoxine. În afară de arahide și făină de arahide, prezența aflatoxinelor a fost semnalată pe cereale, porumb, orez, grâu, soia, pe preparate de legume și fructe, pe brînzeturi, pe furaje. Cea mai frecventă este aflatoxina B₁, B₂ și G₁ fiind mai puțin frecvente și aproape niciodată în absența lui B₁ (3, 22).

Toxicitatea. Aflatoxinele sînt toxice acute la cele mai multe specii, dar ele au o susceptibilitate variată, funcție de specie, sex, vîrstă.

Din datele următoare apar valorile DL₅₀ pentru aflatoxina B₁ (9):
răuște — 0,335 mg/kg, pisici — 0,55 mg/kg, porc — 0,62 mg/kg, cobai — 1,4 mg/kg, șobolani — 0—7,2 mg/kg.

Aflatoxinele B₁ și G₁ în doze unice sînt letale și au acțiune relativ similară: la răuște de 50 g DL₅₀ este de 18,2 mg B₁ și 39,2 mg G₁. Similar la șobolani masculi DL₅₀ este de 7,2 mg B₁/kg i.p. și 14 mg G₁/kg i.p. (9, 33). Aflatoxina B₂ și G₂ au acțiune mai slabă la răuște (DL₅₀ = 1,76 mg B₂/kg și respectiv 2,83 mg G₂/kg) și sînt netoxice la șobolani la doze de 200 mg/kg (10).

Din aceste date reiese că activitatea toxică descrește în ordinea B₁ > G₁ > B₂ > G₂. Concluzii similare s-au tras în legătură cu toxicitatea și la pastrăvi, embrioni de pui, culturi de celule din plămîni și ficat de embrion uman (24).

Carcinogenitatea. Prima semnalare a acțiunii cancerigene a aflatoxinei a fost făcută de Lancaster și colab. în 1961, la șobolani hrăniți cu făină de arahide. S-ar părea că există o relație lineară doză-răspuns în inducerea hepatoamelor cu aflatoxină la șobolani. Astfel, incidența carcinoamelor hepatice induse de făina de arahide conținînd 0,5 ppm (părți pe milion) aflatoxină este de 100% și pentru 0,1 ppm de 50% la șobolanii masculi, iar la femele pentru 0,5 ppm rezultă o incidență de 80%, iar pentru 0,1 ppm o incidență de aproximativ 17% (9, 10).

Dacă se folosește aflatoxină B₁ pură, această diferență pe sexe nu se mai observă la concentrații de 0,015 ppm în dietă, tumorile dezvoltîndu-se în proporție de 100% atît pentru șobolanii masculi, cît și pentru femele (34).

Aflatoxina are acțiune cancerigenă transplacentară, puii șobolănițelor gravide hrănite cu mîncare conținînd aflatoxină ce induce hepatoame (16). Sensibilitatea este mai mare la tineret decît la animalele adulte.

Aflatoxina B₁ este cel mai puternic hepatocancerigen cunoscut pînă în prezent. Deși sensibilitatea în cadrul speciilor variază, toate speciile animale tratate cu aflatoxină B₁ fac tumori de ficat.

Pe lîngă aflatoxina B₁, cel mai puternic cancerigen din aflatoxine, aflatoxinele G₁, B₂, M₁ au de asemenea activitate cancerigenă. La o doză totală de 150 mg B₂/șobolan apar hepatoame la 3 din 9 animale în 57—59 săptămîni, pe cînd cu 1,3 mg B₁/șobolan apar hepatoame la 9 din 9 animale la 46 săptămîni (33). Aflatoxina M₁ este un cancerigen al ficatului la șobolani, păstrăvi, dar cu potență considerabil mai scăzută decît B₁ (18).

Metabolismul. Metabolizarea aflatoxinelor în organism poate fi sintetizată în schema din fig. 14.2.

Metabolizarea aflatoxinelor se petrece în principal în fracțiunea microzomală din celulele hepatice (15, 29).

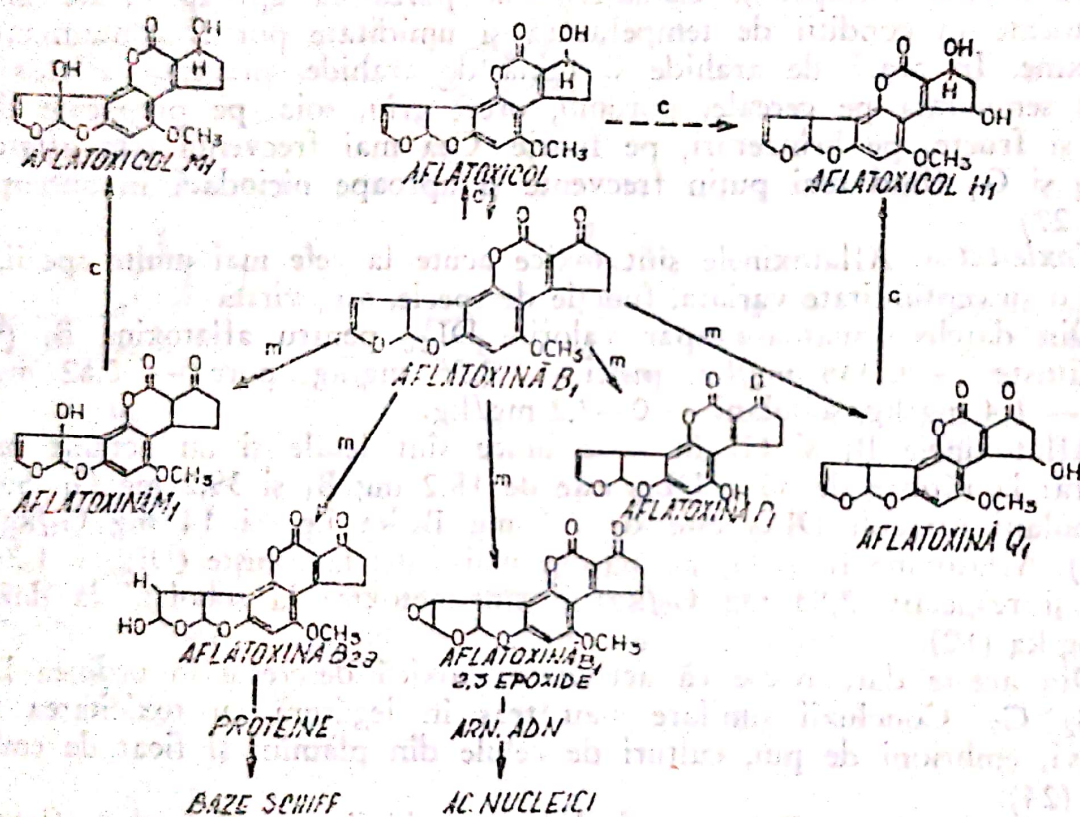


Fig. 14.2. — Metabolizarea aflatoxinei B₁.

Activitatea microzomală diferă de la specie la specie, în funcție de vîrstă și mai ales de echipamentul enzimatic (23, 24, 25). De exemplu, șoarecii metabolizează integral aflatoxina B₁ la produși netoxici și aflatoxină M₁, pe cînd șobolanul este capabil să metabolizeze aflatoxina B₁ doar la M₁, care este un ultim produs metabolic cancerigen (31).

Pe lîngă aflatoxină s-au pus în evidență și alte micotoxine din diverse specii de mucegaiuri, unele cu toxicitate foarte mare, altele mai puțin toxice. Ne vom ocupa numai de micotoxinele cancerigene și anume: sterigmatocistina, patulina, ochratoxina, luteoskirina, islanditoxina, griseofulvina, acidul kojik, acidul penicilic, zearalenona, toxina T-2 și toxina F-2.

Sterigmatocistina ($C_{18}H_{12}O_6$)

Se prezintă sub forma unei substanțe cristalizată acicular, de culoare galben-pal, cu o G.M. = 324. Punctul de topire al cristalelor este de 246°C . Insolubilă în apă și baze tari, este greu solubilă în cei mai mulți solvenți organici și ușor solubilă în cloroform, piridină și dimetilsulfoxid. Emite o fluorescență roșu-portocalie în lumină ultravioletă (17).

Sterigmatocistina a fost obținută în 1960 din culturile de laborator ale unor linii de *Aspergillus versicolor* și mai târziu și din speciile *A. nidulans* și *A. bipolaris*. S-a constatat că această substanță este cancerigenă la șobolanii Wistar de laborator, inducând carcinom hepato-celular, dacă este administrată prin tuburi direct în stomac, sau în dietă de doze de 0,15—2,25 mg/șobolan/zi timp de 52 de săptămâni. Administrată subcutanat sub formă de suspensie în ulei de arahide, în doză totală de 24 mg (0,5 mg/injecție) a indus sarcoame la locul injectiei, cel mai târziu pînă la 65 de săptămâni. Un animal a făcut hepatom, iar altul colangiom. $DL_{50} = 60$ mg/kg greutate corporală la șobolani injectați intraperitoneal.

La șoarecii în hrana cărora s-au adăugat 5 mg sterigmatocistină pură/kg de dietă sau 5 mg *Aspergillus versicolor* în cultură/kg de dietă, timp de 58 de săptămâni, s-au observat adenoame și adenocarcinoame pulmonare.

S-a constatat însă că există, pe lângă sterigmatocistina propriu-zisă, un grup de sterigmatocistine, unele din ele izolate din *Aspergillus flavus*: asperotoxina, respectiv 3-hidroxi-6, 7-dimetoxi-difuroxantona (Rodricks ș.a., 1968; Weiss ș.a. 1968), o-metil-sterigmatocistina (Burkhardt și Forgacs, 1968) și dihidro-o-metil-sterigmatocistina (Cole și Kirgsey, 1970) iar altele izolate din *Aspergillus versicolor*: 5-metoxi-sterigmatocistina (Holker și Kagal, 1968), 6-dimetil-sterigmatocistina (Elsworthy ș.a., 1970), dihidro-sterigmatocistina (Hatsuda ș.a., 1972) și dihidro-dimetil-sterigmatocistina (Hatsuda ș.a., 1972), (6,15). Cîteva sterigmatocistine și formulele lor sînt indicate în fig. 14.3. și 14.4.

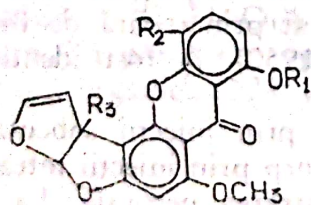


Fig. 14.3. — Sterigmatocistina.

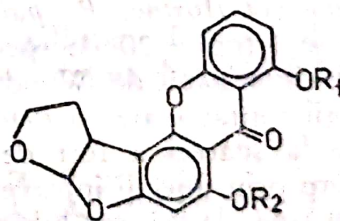


Fig. 14.4. — Sterigmatocistina.

	R_1	R_2	R_3
Sterigmatocistina	H	H	H
o-metil-sterigmatocistina	CH_3	H	H
Aspertoxina	CH_3	H	OH
5-metoxi-sterigmatocistina	H	OCH_3	H

	R ₁	R ₂
Dihidro-o-metil-sterigmatocistina	CH ₃	CH ₃
Dihidro-sterigmatocistina	H	CH ₃
Dihidro-dimetil-sterigmatocistina	H	H

Formula sterigmatocistinei este foarte asemănătoare cu cea a aflatoxinelor, deci și din punctul de vedere al acțiunii biologice există o asemănare între cele două micotoxine. Activitatea hepato-carcinogenică a sterigmatocistinei este însă de 10 ori mai slabă decât activitatea hepato-carcinogenică a aflatoxinei B₁. Structura 2,3-furano-furanică nesaturată a sterigmatocistinei sugerează că oxidul acesteia poate fi un ultim derivat carcinogenic (23).

S-au făcut comparații între leziunile date de sterigmatocistină la șobolani și patologia hepatitei la africanii Bantu din Mozambic. S-au constatat multe asemănări, dar este greu să se atribuie îmbolnăvirea ficatului unui singur agent din mediul înconjurător. S-a afirmat că nu se știe sigur dacă sterigmatocistina a fost prezentă în hrana populației Bantu (17). De ce această nesiguranță? Pentru că spre deosebire de alte micotoxine (aflatoxină, patulină), nu s-a putut observa difuziunea toxinei în substrat, rămânând înmagazinată în miceliu ca endotoxină chiar și după 3 săptămâni.

14.4.3.

Patulina

Patulina (clavacina, claviformina, clavatina, penicidina, expansina). Formula chimică a patulinei este C₇H₆O₄. Substanța pură se obține sub formă de prisme incolore sau plăci, din eter sau cloroform. Are punctul de topire la 111°C și G.M. = 154,12. Este solubilă în apă și în solvenți organici obișnuiți, cu excepția eterului de petrol.

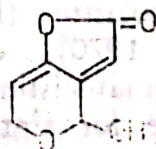


Fig. 14.5. — Patulina.

Produs al metabolismului unor specii diferite de ciuperci și anume: *Penicillium claviforme*, *P. patulum*, *P. expansum*, *Aspergillus clavatus*, *A. giganteus* etc. (peste 20 de specii), a fost descrisă prima oară de Birkinshaw (1943) și sintetizată de Woodward și Singh (1950). A fost identificată în merele roșii contaminate cu *Penicillium expansum*.

DL₅₀ la șoareci a fost de 15 mg/kilocorp prin injecții subcutanate, 25 mg/kilocorp prin injecții intravenoase, 5 mg/kilocorp prin injecții intraperitoneale și aproape de 35 mg/kilocorp prin administrarea perorală. La șobolani, DL₅₀ prin injectarea subcutanată a fost de 15 mg/kilocorp. Prin administrarea patulinei s-au obținut sarcoame la șobolani, la locul injecției subcutanate într-un interval de 69 de săptămâni. La o concentrație de $3,5 \times 10^{-6}$ M, patulina a indus o creștere semnificativă a numărului de aberații cromozomiale în culturile de leucocite periferice umane. (18).

14.4.4.

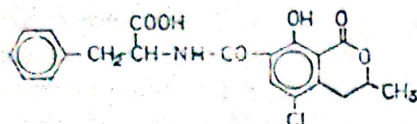
Ochratoxina

Ochratoxina (C₂H₁₅Cl NO₄) este o substanță cristalizată, incoloră, cu punct de topire la 169°C, iar G.M. = 403,8.

Ciupercile producătoare de ochratoxină sînt cuprinse în genurile *Aspergillus* și *Penicillium*; se pare că liniile de *Penicillium* produc ochratoxină în zonele cu un climat rece, la temperaturi în jur de 5°C (36) (Europa de nord și Canada), în timp ce *Aspergillus ochraceus* produce ochratoxină numai în zonele tropicale și subtropicale. Se cunosc trei tipuri de ochratoxine: A, B și C, (36) ale căror formule moleculare sînt:

- ochratoxina A: $C_{20}H_{18}ClNO_6$
- ochratoxina B: $C_{20}H_{19}NO_6$
- ochratoxina C: $C_{11}H_{19}ClO_5$

OCHRATOXINA A.



OCHRATOXINA B.

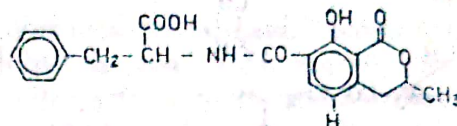


Fig. 14.6. — Ochratoxina A și B.

Ochratoxina A este cea mai toxică și este produsă în cantitatea cea mai mare. Se găsește în cereale mucegăite, fasole și arahide. Din leziunile observate la animale cele mai semnificative sînt nefropatiile (36) care au fost induse la porcinele hrănite cu nutrețuri ce conțineau ochratoxină A. Experimental, prin administrarea acestei toxine la animale s-au obținut fenomene de teratogeneză, mutageneză și carcinogeneză.

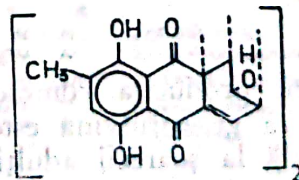
La șoareci nu s-a observat inducerea de tumori experimentale, în schimb la șobolani, la o doză de 2,5 mg/kilocorp prin injecții subcutanate, animalele au dezvoltat fibrosarcoame locale. Administrată peroral în doze de 100 sau 300 mg/șobolan timp de 50 săptămîni, s-a pus în evidență numai o singură tumoare și anume un hamartom al rinichiului. Din cercetările făcute, deși s-au obținut tumori locale, nu se poate trage o concluzie sigură în legătură cu acțiunea cancerigenă a ochratoxinei (18).

14.4.5.

Luteoskirina

Luteoskirina ($C_{30}H_{22}O_{12}$) este o substanță galbenă, formată din cristale rectangulare. Ca punct de topire la 287°C, este solubilă în apă și în cei mai mulți solvenți organici. G.M.=574,5.

Fig. 14.7. — Luteoskirina.



Luteoskirina este obținută din orez contaminat cu *Penicillium islandicum* Sopp și din mucegaiul *Mycella sterilia*. DL₅₀ pentru șoarecii masculi a fost de 145mg/kilocorp prin injecții subcutanate, 221mg/kilocorp administrată peroral și de 6,65 mg/kilocorp prin injecții intravenoase. Este carcinogenică la șoareci, inducând tumori benigne și maligne ale ficatului: adenoame, carcinome și reticulo-endoteliome hepatice.

14.4.6.

Islanditoxina

Islanditoxina (cicloclorotina: $C_{24}H_{31}N_5O_7Cl_2$) este o substanță de culoare albă, cristalizată acicular. Are o G.M.=572,5. Cu punctul de topire la $251^\circ C$, este solubilă în apă și n-butanol.

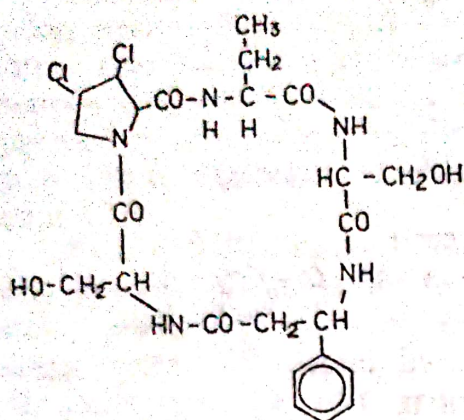


Fig. 14.8. — Islanditoxina.

Islanditoxina este un metabolit produs de *Penicillium islandicum* Sopp (Uraguchi și colab. 1961). Acest mucegai a fost găsit, ocazional pe diferite grâne și în special orez în Japonia, Etiopia și Africa de Sud (18). Substanță puternic hepatotoxică, prin administrarea ei cronică s-a constatat inducerea de tumori hepatice la șoareci: adenoame, carcinoame și reticulo-endoteliioame. DL_{50} la șoareci este de 0,33 mg/kilocorp prin injecții i.v., 0,48 mg/kilocorp administrată subcutan și de 6,55 mg/kilocorp administrată peroral. În urma experiențelor pe animalele de laborator, islanditoxina s-a dovedit a fi o substanță cangerigenă (18).

14.4.7.

Griseofulvina

Griseofulvina ($C_{17}H_{17}ClO_6$) este o substanță cristalizată, incoloră, cu G.M.=352,8, punct de topire de $220^\circ C$, slab solubilă în apă. Este un toxic produs de *Penicillium griseofulvum*, izolată prima oară în 1938 de Oxford. Sinteza ei completă a fost realizată în 1960. Sînt folosite forme mutante de

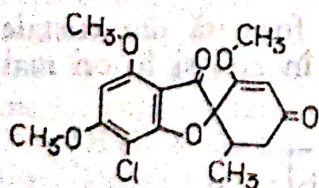


Fig. 14.9. — Griseofulvina.

P. patulum pentru producția comercială de griseofulvină. Din cercetările făcute reiese clar că griseofulvina este hepato-carcinogenică atît prin administrarea ei perorală la șoarecii adulți, cît și subcutanat la puii masculi de șoarece (18).

14.4.8.

Acidul kojik

Acidul kojik ($C_6H_6O_4$) este o substanță cu G.M.=142, 11, care se obține din fructoză sau din manită cu ajutorul bacteriilor oxidante acetice. Ciuperci ca *Aspergillus* sintetizează acidul kojik și din alte zaharuri. Este un metabolit

toxic produs de *Aspergillus tamaris*, *A. orizae*, *A. flavus*, *A. candidus*, *Verticillium dahliae*, *Penicillium* sp. DL₅₀ este de 250 mg/kilocorp la șoarece și de

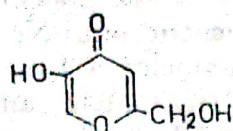


Fig. 14.10. — Acidul kojik

150 mg/kilocorp la câine, doze administrate parenteral. În ultimul timp s-au făcut cercetări și s-a demonstrat acțiunea cancerigenă a acidului kojik (12).

14.4.9.

Acidul penicilic

Acidul penicilic (C₈H₁₀O₄) este o substanță cristalizată, incoloră, cu punct de topire la temperatura de 84,5°C, solubilă în apă caldă, etanol, eter, benzen și cloroform. G.M.=170,2. Acidul penicilic este o micotoxină izolată pentru prima dată din *Penicillium puberulum* în 1913 de Alsberg și Black. Se găsește

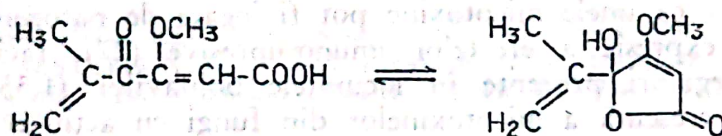


Fig. 14.11. — Acidul penicilic.

în grânele infectate cu *Penicillium martensii* și poate fi pus astfel în evidență în hrana păsărilor de curte. Depozitarea cerealelor infectate cu *P. martensii* la temperaturi scăzute și umiditate ridicată poate să ducă la creșterea cantității de toxină produsă. Acidul penicilic a fost testat și din punctul de vedere al acțiunii sale cancerigene și s-a constatat că induce sarcoame locale sau fibrosarcoame la șoarecii și șobolanii injectați subcutan. DL₅₀ la șoareci a fost de 250 mg/kilocorp prin injecții intravenoase și de 600mg/kilocorp administrată peroral (18).

14.4.10

Zearalenona

Zearalenona (C₁₈H₂₂O₅) compus alb cristalin, cu o G.M. relativă de 318 și cu punctul de topire la 164—165°C, este un metabolit extras din *Fusarium graminearum*, *F. tricinctum*, *F. oxysporum* și *F. moniliforme* (36), cu o acțiune posibil cancerigenă prin acțiunea sa estrogenică.

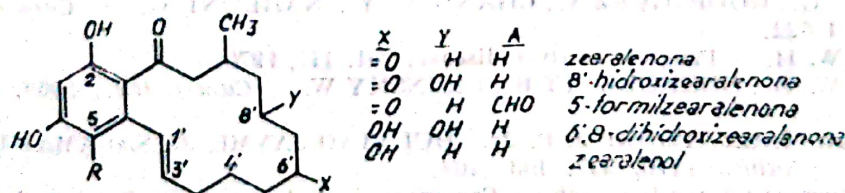


Fig. 14.12. — Zearalenona.

Tot din specii de *Fusarium* au mai fost obținute și alte toxine ca: toxina T-2 din grupul tricotecenelor și toxina F-2. În anumite doze și aceste toxine sînt cancerigene (12). Mirocha, de la Universitatea din Mineapolis, care se ocupă intens în ultimul timp cu studiul toxinelor extrase din specii de *Fusarium*, a reușit să izoleze în laboratorul său încă 6 metaboliți înrudiți cu zearalenona, obținuți din *Fusarium roseum* var. *graminearum* (32).

Din cele expuse se observă că lipsesc datele clinice din care să rezulte fără echivoc apariția tumorilor maligne la om, determinate de micotoxine. Totuși, datele experimentale permit indirect să se conchidă că micotoxinele sînt substanțe cancerigene periculoase și pentru om. Ne gîndim în primul rînd la faptul că rolul cancerigen al micotoxinelor a fost demonstrat pe animale de laborator. Cunosîndu-se faptul că substanțele cancerigene sînt toxice de însumăție, adică indiferent de doză, efectele se însumează cantitativ, înseamnă că doze foarte mici pot să devină cu timpul vătămătoare și pentru om.

IARC a stabilit că printre cancerigenii cu risc sigur la om se află și aflatoxinele. Zonele geografice unde hrana este puternic contaminată cu aflatoxine, zone calde și umede, corespund cu zonele în care incidența cancerului de ficat este crescută, stabilindu-se o strînsă legătură între consumul de aflatoxină și cancerul de ficat (2,26,28,30). De exemplu, în Mozambic s-a găsit că incidența cea mai mare de cancer hepatic primar la bărbați este de 98,2 la 100 000 locuitori, ceea ce corespunde cu 65,5% din toate formele de cancer, hrana fiind sistematic contaminată cu aflatoxină și alte micotoxine (20).

Se sugerează că unele micotoxine pot fi legate de patogeniza leucemiei, probabil ca o expresie a efectelor imunosupresive (27), făcîndu-se determinări de mucegaiuri prezente în locuințele bolnavilor (1,35). Rezultatele indică prezența crescută a micotoxinelor din fungi cu acțiune oncogenică în casele bolnavilor cu cancer, speciile predominante de fungi fiind *Aspergillus flavus* și *Penicillium ssp.* (35).

De aceea, profilaxia cancerului trebuie să țină seama și de prezența acestor substanțe cancerigene în mediul înconjurător, pentru a evita încă un factor posibil de risc.

Bibliografie

1. ALEKSANDROWICZ J., SMYK B. — *Tex. Rep. Biol. Med.*, 1973, 31, 715—726.
2. ALPERT M. E., HUTT M. S. R., WOGAN G. N., DAVIDSON C. S. — *Cancer*, 1971, 28, 252—260.
3. ARMBRECHT B. H. — *Residue Reviews*, 1971, 41, 13—53.
4. ARMBRECHT B. H., HODGES F. A., SMITH H. R., NELSON R. A. — *J. AOAC*, 1972, 55, 804—817.
5. ASPLIN F. D., CARNAGHAN R. B. — *Vel. Rec.*, 1961, 73, 1915.
6. BANU C., PREDA N., VASU S. S. — *Produsele alimentare și inocuitatea lor*, Ed. Tehnică, București, 1982.
7. BLOUNT W. T. — *Vel. Res.*, 1961, 73, 227.
8. BODEY P. G., RODRIGUEZ V., CHANG N. Y., NARBONI G. — *Cancer*, 1978, 41, 1 610—1 622.
9. BUTLER W. H. — *Progress in liver disease*, vol. III, 1970.
10. BUTLER W. H., GREENBLATT B., LIJINSKY W. — *Cancer Res.*, 1969, 29, 2 206—2 211.
11. CAMPBELL T. C., CADEO J. P. Jr., BULATAO-JAYME J., SALAMAT L., ENGLE R. W. — *Nature*, 1970, 227, 403—404.
12. * * * — *Current Cancer Research on Carcinogenic Substances in Food and Drugs, and Related Epidemiology*, 1979.
13. FORD S., FRIEDMAN L. — *J. Bacteriol.*, 1967, 94, 928—933.
14. GALEA V., PREDA N., DEAC G. — *Igiene (Buc.)*, 1970, 19, 501—503.
15. GARNER R. C., WRIGHT C. M. — *Brit. J. Cancer*, 1973, 28, 544.
16. GRICE H. C., MOODIE C. A., SMITH D. S. — *Cancer Res.*, 1973, 33, 262—268.
17. IARC — *Monographs on the Evaluation Carcinogenic Risk of Chemicals to Man*, Lyon, 1, 1972.
18. IARC — *Monographs on the Evaluation Carcinogenic Risk of Chemicals to Man*, Lyon, 1976, 10, 51—72.

19. IHDE D. C., ROBERTS C. W., MARR K. C., BRERETON H. D., McGUIRE W. P., LEVINE A. S., YOUNG R. C. — *Cancer*, 1978, 41, 2 364—2 371.
20. KEW M. C., MARCUS R., GEDDES E. W. — *S. Afr. Med. J.*, 1977, 51, 396—399.
21. LANCASTER M. C., JEMKINS F. P., PHILLIP J. — *Nature*, 1961, 192, 1 095—1 096.
22. LANCILLOTTI F., LUCISANO A. — *Le aflatoxine. Industria conserve*, 1971, 2, 111—123.
23. MILLER J. A., MILLER R. E. — *Fed. Proc.*, 1976, 35, 1 316—1 321.
24. PATTERSON D. S. P. — *Fed. Cosmet. Toxicol.*, 1973, 11, 287—291.
25. PATTERSON D. S. P., ROBERTS B. A. — *Fed. Cosmet. Toxicol.*, 1971, 9, 829—837.
26. PEERS F. G., LINSELL C. A. — *Brit. J. Cancer*, 1973, 27, 473—481.
27. PIER A. C. — *J. Amer. vet. med. Ass.*, 1973, 163, 11, 1 268—1 269.
28. VAN RENSBURG S. J., VAN DER WATT J. J., PURCHASE J. F. II., PEREIRA COUTINHO L., MRKHAM R. — *S. Afr. Med. J.*, 1974, 48, 2 508 a — 2 508 b.
29. SALHAB A. S., HEIEH D. P. H. — *Chem. Path. Pharm.*, 1975, 10, 419—431.
30. SHANK R. C., BHAMARAPRAVATI M., GORDON J. E., WOGAN G. W. — *Fed. Cosme. Toxicol.*, 1972, 10, 171—181.
31. STEYN M., PITOUT M. J., PURCHASE J. F. II. — *Brit. J. Cancer*, 1971, 25, 291—297.
32. STOLOFF L. — *J. AOAC*, 1972, 55, 265—269.
33. WOGAN G. M., EDWARDS G. S., NEWBORNE P. M. — *Cancer Res.*, 1971, 31, 1 936—1 942.
34. WOGAN G. M., EDWARDS G. S., SHANK R. C. — *Cancer Res.*, 1967, 27, 1 729.
35. WRAY B. B., O'STEEN K. G. — *Arch. environm. Hlth.*, 1975, 30, 571—573.
36. * * * — *Mycotoxins. Environmental Health Criteria 11*, World Health Organization, Geneva, 1979.

15. Radiațiile și oncogeneza I, CHIRICUȚĂ

Cuprins

- 15.1. Aspecte fizice — 460
 - 15.1.1. Radiațiile ionizante — 460
 - 15.1.2. Radioizotopii — 460
 - 15.1.3. Surse de iradiere și tehnici de iradiere — 461
 - 15.1.4. Dozimetria radiațiilor — 461
- 15.2. Legătura doză — incidență. Mecanisme de radiocarcinogeneză — 462
- 15.3. Leucemiile — 463
 - 15.3.1. Leucemia la radiologi — 464
 - 15.3.2. Leucemia la supraviețuitorii de la Nagasaki și Hiroshima — 465
 - 15.3.3. Leucemia la bolnavii iradiați terapeutic pentru spondilită anchilopoietică — 466
 - 15.3.4. Leucemia la copii — 466
 - 15.3.5. Leucemia la copiii iradiați *in utero* — 466
- 15.4. Cancerul tiroidian — 467
- 15.5. Cancerul cutanat — 468
- 15.6. Alte localizări ale cancerelor radio-induse — 468

15.1. Aspecte fizice

15.1.1. Radiațiile ionizante

Radiațiile ionizante se pot împărți în radiații electromagnetice, compuse din radiațiile X și gamma și radiații corpusculare, formate din electroni, protoni, neutroni, particule alfa și alți nuclei grei.

Ambele tipuri de radiații sînt urmate de efecte biologice prin ionizarea compușilor importanți ai celulelor în urma absorbției lor. Dacă din punctul de vedere al efectelor biologice apărute și al modului de acțiune sînt identice, se deosebesc totuși cantitativ prin puterea de pătrundere și modul în care pierd energia în interiorul celulelor. Caracteristice fiecărui tip de radiații sînt LET (transferul liniar de energie) și EBR (eficacitatea biologică relativă) (tabelul 15.I.).

15.1.2. Radioizotopii

Radioizotopii pot constitui sursa oricărui tip de radiații: alfa, beta, gamma; prin urmare, pot să inducă aproape orice tip de leziune radio-indusă.

Radioizotopii diferă în special prin radiațiile emise și prin comportarea lor metabolică *in vivo*.

TABELUL 15.1

EFICACITATEA BIOLOGICĂ RELATIVĂ PENTRU DIVERSE TIPURI DE RADIAȚII

Tipul radiației	RER
Radiații X și gamma	1
Radiații beta	1
Neutronii termici	5
Protoni	10
Neutroni rapizi	10
Radiații alfa	20

15.1.3.

Surse de iradiere și tehnici de iradiere

Sursele de iradiere se pot împărți în surse de iradiere naturale și artificiale. În funcție de originea lor, sursele de iradiere naturale, pot fi surse extraterestre (radiațiile cosmice) și surse terestre (elemente radioactive în sol, aer, apă). Sursele de iradiere artificiale pot fi împărțite în funcție de modul de iradiere, în surse externe și interne.

15.1.4.

Dozimetria radiațiilor

Multe metode pentru detecția și măsurarea radiațiilor ionizante depind de colectarea ionilor formați prin interacțiunea radiației cu un gaz sau un solid. Metodele adiționale includ tehnici fotografice, scintilatorii, colorimetria, radiofotoluminiscența.

Indiferent de metoda dozimetrică, scopul major este măsurarea cantității și distribuției energiei absorbite în interiorul masei absorbante. Unitatea dozei absorbite este *radul*, care reprezintă cantitatea de 100 ergi cedată unui gram de țesut. Röntgenul (r) este acea cantitate de radiații X sau gamma, care produce o unitate de sarcină electrostatică în 1 cm³ de aer la presiune și temperatură standard. În general, prin expunerea unui țesut la 1 r de radiații X sau gamma se eliberează o doză absorbită puțin mai mică de 1 rad; totuși, raportul rad/r variază cu energia radiației și densitatea țesutului absorbant.

În prezent, în studiul încărcării radiative se utilizează următoarele unități de măsură (Rădulescu D., 1977):

a) pentru aprecierea dozelor primite de individ:

- măsurarea expunerii în R,
- doza gonadică,
- doza absorbită de organele hematopoietice,
- doza integrată,
- doza pe suprafață

b) pentru aprecierea dozelor primite de populație:

— doza cu semnificație genetică — DSG: această doză variază în funcție de numărul examinărilor radiologice, de sistemul de măsurare, de aparatura de examinare, de efectuarea de radioscopii sau radiografii. Pentru țara noastră, doza cu semnificație genetică este estimată la 28,5 rad. UNSCEAR consideră că gradul iradierii cu semnificație genetică trebuie să fie sub 20% din iradierea naturală;

— doza cu semnificație leucemogenă — DSL, reprezintă riscul leucemogen bazat pe determinarea dozei medulare a populației. Doza cu semnificație leucemogenă, în țara noastră, atinge 1 rad/an.

În funcție de aceste două doze, (cu semnificație genetică și leucemogenă) pot fi apreciate riscurile posibile în cazul iradierii populației prin iradiere utilă și inutilă.

Iradierea artificială este definită ca suma dozelor pe care le primește populația, ca urmare a acțiunilor tuturor surselor de radiații create de om.

În ultimii ani s-a observat o creștere a iradierii populației prin iradiere artificiale, perfect controlabilă. Principala sursă de iradiere artificială este iradierea medicală utilizată în scop diagnostic și terapeutic.

Din punct de vedere radiologic, iradierea medicală se împarte în iradiere utilă și inutilă. Iradierea utilă este suma dozelor distribuite indivizilor unei populații în scopul de a obține informații diagnostice strict necesare și modificări ale proceselor patologice în terapeutică. Iradierea medicală inutilă este reprezentată de dozele care nu au adus nici un fel de informație diagnostică, și a căror contribuție diagnostică sau terapeutică putea fi obținută și prin alte mijloace, cu un risc potențial mai redus pentru populație.

15.2.

Legătura doză-incidență.

Mecanisme de radiocarcinogeneză

Din studii experimentale pe animale de laborator, curbele de incidență-doză pot semnală următoarele:

— în zona dozelor înalte incidența tinde la un platou sau chiar scade cu creșterea dozei, probabil datorită distrugerilor excesive;

— în zona dozelor intermediare incidența crește mult mai pronunțat decât în zona dozelor înalte sau joase;

— cu descreșterea dozei și a debitului, curba tinde să devină mai puțin pronunțată, cel puțin pentru radiațiile cu LET mic.

Din aceste observații se pot trage următoarele concluzii:

- a) efectul de inițiere are loc la doze joase;
- b) aceste efecte sînt reversibile sau reparabile în stadiile incipiente;
- c) pentru dozele intermediare, aceste efecte sînt amplificate de alte tipuri de efecte;
- d) efectele combinate nu sînt exprimate la doze înalte, datorită distrucțiilor excesive.

Natura efectului de inițiere sau mecanismul cauzator la doze joase nu este încă cunoscut, dar se presupune că ar fi datorat unei mutații somatice, acțiunii unui virus oncogen latent sau unor modificări ale mecanismelor de control ale homeostaziei, ca: tulburări hormonale, supraveghere imunologică, cinetica populației celulare.

Deși asocierea dintre iradiere și apariția neoplasmelor a fost demonstrată și la niveluri joase de iradiere și cuprinde un mare număr de neoplazii, relația dintre incidență și doză nu poate fi însă precis specificată pentru nici un tip de neoplasm. Mai mult, există dovezi că relația doză — incidență poate varia în funcție de mai multe variabile, ca: tipul neoplasmului în cauză, vîrsta populației la momentul iradierii.

Dificultățile care apar la considerarea efectului radiațiilor ionizante în contextul radio-carcinogenezei (Upton, 1974) sînt:

- cancerul este o boală rară, deci trebuie studiate populații mari pentru a obține date asupra incidenței neoplasmelor în orice localizare în corp;
- există puține populații care să fie și suficient de numeroase și să fi fost expuse la o doză semnificativ mai mare, măsurabilă, pentru a obține date asupra relației doză-incidență;
- lungimea duratei de latență dintre momentul iradierii și apariția unui cancer a complicat urmărirea indivizilor expuși și evaluarea dozei absorbite;
- datorită unei perioade de latență lungi, nici una din populațiile iradiate investigate la o anumită dată nu a putut fi urmărită pentru o perioadă mai lungă de timp pentru a se evidenția riscul cancerelor radio-induse asupra duratei medii de viață;
- multe din datele existente se bazează pe bolnavi, care au fost expuși iradierii în scopuri medicale și la care efectele iradierii se pot confunda sau sînt modificate și de efectele altor tratamente sau chiar ale bolii de bază;
- unele din date se bazează pe efectele radionuclizilor depozitați intern, interpretarea cantitativă fiind complicată de variații marcate sau slab definite în timp și în spațiu ale dozei;
- frecvența naturală a cancerului variază foarte mult de la un organ la altul și sub influența fondului genetic, vîrstei, sexului, localizării geografice, dietei, factorilor socio-economici și ale altor variabile, a căror acțiune nu este încă bine înțeleasă.

Datele asupra relației doză-incidență deduse dintr-o populație nu se pot aplica strict la altă populație.

În lumina acestor limitări, pentru moment sînt justificate numai concluzii experimentale asupra legăturii dintre incidență și doză, atît timp cît sînt interesate populațiile umane. În ciuda acestor limitări, s-a observat totuși o regresie sistematică a incidenței cu doza, pentru următoarele neoplasme: tumori ale glandei tiroide, osteosarcoame și carcinoame pulmonare.

Din neoplasmele menționate, numai leucemia și tumorile tiroidiene au fost observate că apar într-o frecvență care depinde de expunerea la iradierea externă la un domeniu larg de doze care ar putea fi exprimate destul de rezonabil în rads. Este de remarcat că pentru fiecare tip de cancer curba incidență-doză nu este în contradicție cu linearitatea și corespunde unui risc de 1—5 cazuri/ 10^6 /an la risc per rad în primii 15—20 de ani după o expunere la o doză de 100 rad sau mai mult.

Aceste date i-au făcut pe mulți din observatori să se întrebe asupra existenței unei doze-prag pentru carcinogeneză și au permis unora să speculeze că inducerea cancerului de către radiațiile ionizante ar urma cinetica unei singure ținte în fiecare țesut al corpului și că toate tipurile de malignitate sînt afectate în același fel.

15.3.

Leucemiile

Studiile epidemiologice au demonstrat efectul leucemogen al radiațiilor ionizante.

În 1911 a fost afirmată pentru prima dată existența efectelor leucemogene ale radiațiilor ionizante de Jagie, Schwart și Von Siebenrock, care au raportat 11 cazuri de leucemii la personalul ce lucrează în medii cu radiații.

Creșterea incidenței acestor neoplasme a fost observată la radiologii din S.U.A., la supraviețuitorii bombardamentului atomic de la Hiroshima și Nagasaki, la copii iradiați pentru leziuni benigne ca hipertrofia timusului, tuberculoza ganglionilor cervicali, hipertiroidism, acnee, la adulți iradiați în scop terapeutic pentru spondilită anchilopoietică și copii iradiați în utero, radiațiile ionizante fiind doar unul din multiplii factori de mediu care pot să influențeze incidența bolii.

Tipul leziunilor mielo- și limfo-proliferative este dependent de vârsta la care a fost aplicată iradierea și condițiile de iradiere și anume, distribuția dozei în țesuturile corpului. Formele histologice cel mai frecvent asociate cu iradierea sînt cele acute și mielocitice. De asemenea, susceptibilitatea la inducerea acestor stări morbide pare să crească cu vârsta la momentul iradierii. În perioada adultă mai sînt asociate cu iradierea: limfosarcomul, reticulosarcomul, boala Hodgkin, mielomul multiplu, anemia aplastică și mielofibroza (tabelul 15.2).

15.3.1.

Leucemia la radiologi

Warren (1958) și Maloney (1959) au comparat incidența leucemiei la radiologii și medici de alte specialități, observînd o creștere semnificativă în rîndul celor dintîi (3,7—4,8% incidență pentru medicii radiologi, față de 0,5% pentru cei de alte specialități).

TABELUL 15.11

APARIȚIA LEUCEMIEI, LIMFOAMELOR ȘI A BOLILOR ASOCIATE LA POPULAȚIA EXPUSĂ RADIAȚIILOR IONIZANTE

	Leucemie							
	Tip nespecificat	Acută și cronică miceloidă	Acută limfatică cu celule stem	Limfoidă cronică	Limforeticulosarcom	B. Hodgkin	Mielom multiplu	Anemie aplastică și mielofibroza, matoză.
Radiologi	+						+	+
Supraviețuitori japonezi ai bombardamentului atomic	+	+	+		+	+	+	+
Adulți iradiați pentru spondilită	+	+	+		+		+	+
Adulți iradiați pentru policitemia vera		+	+					+
Adulți tratați cu radium								+
Adulți tratați cu Thorotrast		+						
Copii iradiați pentru hipertrofie de timus			+					
Copii iradiați în utero			+					

În studiul a 425 de certificate de deces ale medicilor radiologi care au decedat între vîrsta de 35—74 ani în perioada 1948—1961, Lewis (1963) a găsit o preponderență statistic semnificativă a deceselor prin leucemie, mielomatoză și anemie aplastică. Acestea au fost: 12 cazuri de leucemie față de 4 cazuri statistic prevăzute, tipul lor histologic corespunzînd celor radio-induse, 5 cazuri

de mielom multiplu față de 1 caz statistic prevăzut și 4 cazuri de anemie aplastică față de 0,2 prevăzute statistic.

În ciuda concluziilor deosebit de importante care se pot trage în urma acestor studii retrospective, valoarea lor este limitată și rămân deschise pentru serioase critici. Rezultatele studiilor arată că expuneri parțiale repetate pe o durată de mai mulți ani se asociază cu o incidență crescută a leucemiei, dar nu sînt prea multe date informative asupra aspectului cantitativ și anume asupra relației-doză-efect. În ciuda faptului că erau cunoscute puține date despre dozele primite de radiologi în acea perioadă de început, se presupune că doza acumulată era de aproximativ 100 r/an, în timp ce standardele recente au redus expunerea anuală la 1 r/an, care corespunde cu doza cu semnificație leucemogenă.

Braestrup (1957) a estimat că un radiolog american, lucrînd cu un aparat de tip vechi, cu posibilități limitate de protecție, a primit aproximativ 100 r/an și că expunerile înainte de 1930 au fost considerabil mai mari. În prezent, expunerea anuală medie este de 1 rad/an. Estimările sale asupra dozei totale acumulate de un radiolog care a practicat 40 de ani specialitatea se ridică la cifra de 200 rad.

În scopul confirmării celor menționate, semnalăm faptul că în Anglia nu a apărut nici un caz de leucemie față de cele prevăzute statistic la medicii radiologi care au început să practice după 1921. Aceasta se atribuie faptului că protecția împotriva iradierii a avut standarde înalte și a fost introdusă în Anglia în 1921 și că radiologia s-a practicat în mai mică măsură de medici nespecialiști.

15.3.2.

Leucemia la supraviețuitorii de la Nagasaki și Hiroshima

Cele mai multe informații asupra relației dintre radiațiile ionizante și incidența crescută a leucemiei sînt cele rezultate din rapoartele Comisiei ABCC (Atomic Bomb Casualty Commission), apărute după 1951.

Valoarea acestor studii rezultă din:

- numărul mare de persoane investigate, de ambele sexe;
- mărimea intervalului de timp acoperit;
- o singură iradiere a întregului corp cu diferite doze (în funcție de distanța de la hipocentrul exploziei).

Concluziile acestor studii pot fi rezumate după cum urmează:

- incidența leucemiilor a crescut net după expunerea la iradiere cu radiații gamma și neutroni și răspunsul a variat direct cu doza;
- incidența leucemiei a fost mai mare la supraviețuitorii care au fost mai aproape de 1 500 m de hipocentru;
- la peste 2 000 m de la hipocentru incidența este identică cu cea a populației din Japonia, unde rata incidenței leucemiei pentru ambele sexe este de 25 cazuri/milion/an;
- numărul de cazuri noi de leucemie observate la bărbați și femei în fiecare oraș, între 1950—1958, a crescut de 5 ori față de numărul așteptat;
- la Nagasaki incidența la femei a fost de 3 ori mai mare decît rata scontată (prevăzută statistic), iar la bărbați de 8 ori;
- sensibilitatea este crescută la persoanele tinere (copii);

— supraviețuitorii sub 10 ani în 1945 au arătat cea mai mare incidență a leucemiei;

— perioada de latență pentru apariția leucemiei este greu de evaluat. Creșterea incidenței leucemiei începe la 1—11/2 ani după explozie; riscul mare este între 4 și 7 ani de la expunere, iar acest risc rămâne crescut până la 14 ani de la expunere;

— doza-prag pentru inducerea leucemiei pare să fie între 100—500 rad.

15.3.3.

Leucemia la bolnavii iradiați terapeutic pentru spondilită anchilopoietică

În jurul anilor 1940, radioterapia devine o metodă terapeutică în spondilita anchilopoietică. Ședințele terapeutice constau din iradiieri ale coloanei vertebrale, totale sau numai a anumitor zone. Astăzi este bine stabilit că incidența leucemiei la pacienții tratați a fost de 20 ori mai mare decât incidența normală. Incidența maximă a leucemiei se atinge la 4—5 ani după iradiere, iar acest risc rămâne crescut până la 15 ani de la expunere.

Court, Brown și Doll (1957), studiind incidența leucemiei la un număr de 13 352 bolnavi iradiați pentru spondilită între 1935—1954, au pus în evidență 32 de cazuri de leucemie, 4 cazuri de anemie aplastică, față de 2,9 și respectiv 0,3 cazuri statistic prevăzute.

15.3.4.

Leucemia la copii

În urma unor ample studii epidemiologice s-a evidențiat creșterea incidenței leucemiei la copiii iradiați terapeutic pentru diferite afecțiuni sau *in utero*, în scop diagnostic.

Hempelman și colab. (1967) au efectuat un studiu epidemiologic cuprinzând 2 393 de copii tratați cu raze X pentru hipertrofie de timus. S-a evidențiat prezența a 21 de neoplasme, față de 3,6 cazuri prevăzute statistic. Dintre aceste cazuri, 10 au decedat prin leucemie.

În urma acestor studii epidemiologice (asupra bolnavilor adulți tratați prin iradiere în scop terapeutic pentru spondilită și a copiilor iradiați pentru hipertrofie de timus, iradiieri efectuate în regiunea anterioară a mediastinului), s-a putut observa că iradierea parțială a corpului este leucemogenă atunci când este iradiat un volum mare de țesut hematopoietic. Acest lucru nu este verificat și pentru cei tratați prin iradiere pentru alte localizări ale cancerului.

La ora actuală încă nu se poate afirma existența unei doze-prag pentru inducerea leucemiei.

15.3.5.

Leucemia la copiii iradiați in utero

Stewart, Welb și Hawitt (1958) au raportat copii ale căror mame au avut iradiieri abdominale sau pelviene în timpul gravidității. Aceștia au prezentat o frecvență crescută a leucemiei sau altor localizări ale cancerului. Incidența cancerului a fost de două ori mai mare la copiii iradiați *in utero* în scop diagnostic cu raze X (doza de iradiere fiind 80—600 mr/film).

La supraviețuitorii japonezi nu a existat nici o corelație între iradierea prenatală și leucemie la copii. La copiii expuși prenatal, incidența leucemiei atinge un maxim la 3—5 ani de la naștere și se normalizează după 7 ani.

Referitor la fondul natural de radiații este presupus că acesta ar fi responsabil în 1/10 din cazurile spontane de leucemie.

15.4.

Cancerul tiroidian

Incidența tumorilor tiroidiene este crescută la copiii care au fost iradiați în scop terapeutic, în regiunea gâtului și capului pentru afecțiuni ca: hipertrofie de timus, acnee, hipertiroidism, tuberculoza ganglionilor cervicali. Neoplasmele includ carcinoame, adenoame, noduli hiperplastici, care s-au dezvoltat după o perioadă de latență care a variat între 10 și 20 de ani.

Totuși, nici un studiu epidemiologic nu a putut cuprinde un număr suficient de bolnavi, pentru a indica o relație precisă între doză și incidență.

Studiind un lot de 430 de bolnavi cu cancer tiroidian, Duffy și Fitzgerald (1950) au observat că din aceștia 28 aveau sub 18 ani și au fost iradiați pe regiunea timusului la vârste între 4 și 16 luni.

Latourette și Hodges (1959), pe un grup de 867 copii iradiați pentru hipertrofie de timus înainte de 1942, cu doze mai mici de 200 r, printr-o poartă de intrare de 10/10 cm, au semnalat 2 cazuri de limfoame (o leucemie) în plus față de incidența statistic prevăzută. La un copil a fost diagnosticat un carcinom tiroidian.

Saenger și colab. (1960) au studiat 1 644 de persoane din 2 230 care au fost iradiate în copilărie în regiunea capului, gâtului și toracelui, în comparație cu 3 777 martori. Au găsit 11 carcinoame tiroidiene și un caz de leucemie la lotul studiat, față de nici unul la lotul de control.

La supraviețuitorii de la Nagasaki și Hiroshima, la 1 215 autopsii practicate, au fost evidențiate 21 neoplasme tiroidiene diagnosticate histologic (carcinoame): 7 din acestea au fost găsite la persoane care au fost expuse iradierii la o distanță de până la 1 400 m de la hipocentrul exploziei. Numărul statistic era de 3 (în baza ipotezei că nu ar exista o relație între incidența tumorilor tiroidiene și iradiere).

Jeldis, Jablon și Iahida (1964) au diagnosticat 7 carcinoame tiroidiene la 124 de autopsii la persoane expuse iradierii la o distanță de până la 1 400 m de la hipocentrul exploziei, față de 3,5 prevăzute statistic.

Hempelmann și colab. (1967) au urmărit 2 878 de copii pe o perioadă medie de 16,5 ani și au observat 19 carcinoame tiroidiene față de 0,14 prevăzute statistic. Doza medie tiroidiană a fost de aproximativ 160 rad, iar rata de inducere a cancerului tiroidian a fost de 0,40%/100 rad.

La 10 900 de copii iradiați pentru micoze ale pielii capului, Modan și colab. (1974) au găsit 12 carcinoame tiroidiene față de 2 prevăzute statistic, după o perioadă de 13—24 ani de la iradiere. În ciuda faptului că doza medie tiroidiană a fost de 6,5 rad, rata de inducere a cancerului tiroidian a fost foarte crescută (1,46%/100 rad).

Într-o lucrare recentă, Wilkins (1978) semnalează că peste 1 milion de oameni din S.U.A. au primit iradiere în regiunea capului și gâtului pentru diferite afecțiuni benigne la vârsta de copil mic. Calculele autorului arată că 735 de persoane din acest lot vor sucomba prin cancer tiroidian.

Cancerul cutanat

Prima localizare neoplazică atribuită efectului radiațiilor ionizante a fost un carcinom epidermoid pe mîna unui radiolog, în 1902. În S.U.A. primul bolnav decedat în urma unei tumori radio-induse a fost asistentul lui Thomas Edison, Clarence Madison Dally, în 1904, care a lucrat cu surse de radiații X.

Cazuri similare au fost observate la radiologii care și-au expus în mod repetat mîinile iradierilor. La toți aceștia s-au semnalat în antecedente radio-dermite, iar apariția tumorilor cutanate a urmat după o lungă perioadă de latență de la momentul iradierii. Majoritatea cancerelor aveau ca tipuri histologice: carcinom pavimentos spinocelular, carcinom bazocelular, fibrosarcoame.

În general se postulează că incidența cancerului este dependentă de severitatea radiodermitelor din antecedente și s-a sugerat că expuneri prelungite la mai puțin de 4 r/zi pot culmina cu o neoplazie, semnalîndu-se tumori în zona iradiată pe pielea care părea clinic normală.

Alte localizări ale cancerelor radio-induse

În afară de localizările neoplazice radio-induse amintite, au fost raportate și altele, induse de asemenea de radiațiile ionizante. Trebuie menționat însă că dovezile în ceea ce privește originea lor radio-indusă sînt mai puțin concludente decît cele pentru tumorile anterior discutate pe larg. Din aceste tumori se pot aminti: limfoamele la supraviețuitorii bombardamentelor atomice din Japonia și la bolnavii iradiați pentru spondilită anchilopoietică; tumori faringiene la bolnavii iradiați pentru spondilită, la cei tratați pentru tireotoxicoză sau alte afecțiuni la gît; tumori gastrice și pancreatice la bolnavii iradiați pentru spondilită; tumori uterine la supraviețuitoarele bombardamentelor atomice; colangioame și hemangioendotelioame ale ficatului la bolnavii injectați intravascular cu Thorotrast; cancere ale sînului la bolnavii examinați în repetate rînduri pentru tuberculoză pulmonară și la supraviețuitorii bombardamentelor atomice; tumori ale glandelor salivare la cei care au fost iradiați în regiunea capului și gîtului în copilărie și alte multe neoplasme provenite din iradierea intensă a diferitelor zone ale corpului.

Bibliografie

BOICE I. D., FRAUMENI J. F. — Radiation Carcinogenesis: Epidemiology and Biological Significance. (Progress in Cancer Research and Therapy. Vol. 26) Raven Press, New York, 1984.

* * * — Radiobiologia, Ed. științifică, 1970.

* * * — Probleme de radiobiologie și medicină nucleară, vol. I, lucr. Simpozionului din 16-17 martie 1977, Red. D. Rădulescu.

UPTON A. C. — Radiation injury. The University of Chicago Press, Chicago — Londra, 1969.

UPTON A. C. — Radiation carcinogenesis, In: „Methods in cancer research”, Ed. by H. Buch, vol. IV, p. 53-82, 1968.

UPTON A. C. — Radiation, In: „Cancer medicine”, Ed. Holland J. F., Frei E. III, Lea and Febiger Pha., p. 90-100, 1968.

VAN CLEAVE CH. D. — Late somatic effect of ionizing radiation, Ed. US Atomic Energy Commission, Div. of Technical Information, Oak-Ridge, Tenn, 78-149, 1968.

YUHAS I. M., TENNANT R. W., REGAN, I. D. — Biology of Radiation Carcinogenesis. Raven Press, New York, 1978.

16.

Efectul cancerigen al substanțelor radioactive naturale și artificiale

Z. URAY

Cuprins

- 16.1. Cancerul cutanat — 469
- 16.2. Tumorile osoase — 471
- 16.3. Cancerul pulmonar — 474
- 16.4. Cancerul tiroidian — 476
- 16.5. Tumorile antehipofizare — 479
- 16.6. Cancerul uterin — 479
- 16.7. Cancerul hepatic — 479
- 16.8. Cancerul aparatului digestiv — 480
- 16.9. Cancerul renal — 480
- 16.10. Leucemiile și limfoamele — 481

În ciuda faptului că au trecut aproape 80 de ani de la descoperirea efectului cancerigen al radiațiilor ionizante, problema radio-carcinogenezei este și azi intens studiată pe oameni și pe animale de experiență.

În ultimele decenii problema a devenit și mai importantă și actuală, datorită faptului că utilizarea energiei nucleare și a radiațiilor ionizante în cele mai diferite domenii ale activității umane este în continuă creștere, ceea ce face ca un număr din ce în ce mai mare de persoane să fie expuse unor surse de energie radiantă.

Comisii internaționale, naționale, cercetători, medici epidemiologi și radioigieniști studiază efectul biologic al radiațiilor ionizante, utilizarea lor medicală, industrială și biologică, precum și măsurile de protecție igienic-sanitare care se impun.

Vor fi trecute în revistă principalele date din literatura de specialitate privind studiile epidemiologice, clinice și experimentale, efectuate în scopul elucidării problemei complexe a radiocancerelor induse de substanțele radioactive naturale și artificiale.

16.1.

Cancerul cutanat

La scurt timp după descoperirea radiului de Pierre și Marie Curie (1899), fizicienii și chimiștii care au lucrat cu substanțe radioactive au semnalat acțiunea acestora asupra pielii, prin apariția de eriteme și radiodermite.

După accidentul suferit de Becquerel (radiodermită în dreptul buzunarului în care a purtat o cantitate mică de radium), Pierre Curie a reprodus experimental, pe propriul lui braț, radiodermita cu radium. La scurt timp a fost recunoscută asemănarea dintre efectele biologice ale radiațiilor descoperite de Röntgen în 1895 și ale radiațiilor gamma emise de substanțele radioactive naturale.

În 1902, Friebe semnalează primul caz de cancer cutanat indus de radiațiile X.

Cu 21 ani mai târziu, în 1923, Leitch descrie trei cazuri de epitelioame localizate pe degetele unor medici și oameni de laborator care au manipulat timp de 10—15 ani surse de radium.

În 1931 Laborde descrie mai multe cazuri de cancere cutanate la femei tinere, ale căror hemangioame (ale feței) au fost tratate cu ace de radium. Bolnavele au fost supuse la 10 aplicații într-un interval de 2 ani. După o perioadă de latență medie de 20—21 de ani, la unele bolnave la locul tratat s-au dezvoltat epitelioame spinocelulare.

Lazarus-Barlow (1922) și Dales (1937) au implantat subcutanat la șobolani tuburi mici de radium și au obținut epitelioame epidermoide, sarcoame și epitelioame.

Mottram (1931) a aplicat o sursă de radium pe pielea șobolanilor și după un timp de 8—13 luni a obținut sarcoame la câteva animale.

Passonneau (1955) a iradiat pielea șobolanilor cu un aplicator de stronțiu (^{90}Sr) de 1500 μCi cu o suprafață de 35 cm^2 timp de 48 de ore și a obținut tumori cutanate maligne. Dacă aceeași doză a fost aplicată în focare punctiforme, riscul cancerigen nu a crescut față de prima experiență.

Henshaw (1949) a iradiat pielea unor șobolani cu fosfor radioactiv (^{32}P) zilnic, timp de 18 luni, doza totală fiind de 23 000 rep. Alte grupuri de șobolani au fost iradiate cu doze unice de 4 500 și 6 500 rep. După 18 luni, incidența tumorilor cutanate la primul lot, iradiat fracționat, a fost asemănătoare cu incidența observată la cele două loturi iradiate cu doze unice.

Completând aceste experiențe, Henshaw a demonstrat că doze unice mai mici de 1 500 rep. sau zilnice (fracționate), mai mici de 0,5—5,0 rep. nu au avut efecte tumorigene. După o expunere unică mai mare de 4 000 rep., 100% din animalele iradiate au dezvoltat în 6—10 luni leziuni cutanate maligne.

Dezvoltarea cancerului cutanat indus de iradiere este un proces complex. Până în prezent nu se poate stabili o relație precisă cauză — efect între factorii care contribuie la transformarea malignă a pielii.

Rolul factorilor ca: tipul radiațiilor (X, gamma, alfa, beta) și energia lor, transferul linear de energie, doza totală, iradiere totală sau parțială, debitul dozei, iradiere unică sau fracționată, mărimea ariei iradiate, numărul celulelor epidermice și dermice iradiate, starea fiziologică a subiectului iradiat, rolul favorizant al unor substanțe (ulei de croton, substanțe cancerigene) și al unei boli a pielii (psoriasis, lupus eritematosus) sînt încă în studiu.

Pe baza datelor clinice și experimentale se pot trage următoarele concluzii preliminare:

- pentru obținerea unei incidențe crescute de cancer cutanat, pielea trebuie iradiată cu doze unice mari, care provoacă leziuni ulcerative, a căror refacere este însoțită de modificări vasculare progresive și de procese de cicatrizare;

- transformarea malignă a pielii are loc pe fondul unei leziuni de radiodermită cronică, fără ca aceasta să fie însă obligatorie;

— cancerul cutanat se dezvoltă prin transformarea celulelor epidermale cu proliferare activă (epiteliom) sau prin transformarea malignă a fibroblaștilor (sarcom);

— în comparație cu cancerule cutanate induse de substanțe chimice, cele radio-induse se manifestă după o perioadă mult mai lungă de latență;

— această perioadă de latență la profesioniști (radiologi, izotopiști, chimiști) se situează între 19 și 34 de ani, iar la bolnavii supuși radioterapiei între 4 și 21 de ani;

— timpul de latență pentru apariția sarcoamelor este mai scurt decât cel pentru apariția epiteliomelor; de asemenea, este mai scurt în cazul iradierii cu raze X decât în cazul iradierii cu substanțe radioactive;

— la șoareci și șobolani iradiați, majoritatea tumorilor induse de iradiere sînt sarcoame, iar la om carcinoame. Absența foliculilor piloși și a leziunilor cutanate superficiale (arsuri, cicatrice) favorizează formarea carcinoamelor, iar prezența părului bogat apariția sarcoamelor.

16.2.

Tumorile osoase

Sarcomul osos este forma de neoplazie malignă favorabilă unui studiu clinic și experimental asupra efectului cancerigen al radiațiilor ionizante, din următoarele motive:

— contaminarea în perioada 1913—1930 — au fost contaminate un număr relativ mare de persoane cu săruri de radium și toriu;

— persistența îndelungată a substanțelor radioactive în oase, ceea ce duce la iradierea celulelor osoase cu o doză cumulativă mare;

— depozitele active osoase pot fi identificate radiometric și autoradiografic, chiar după o perioadă lungă, de câțiva ani;

— identificarea relativ precoce a relației dintre substanța radioactivă pătrunsă în organism și apariția cancerului osos.

În anii 1930, descoperirea unei contaminări în masă la muncitorii care aplicau vopsele luminescente pe cadranele ceasurilor a atras atenția specialiștilor asupra efectului carcinogen al acestor substanțe (Martland, 1929). Între anii 1915 și 1927, vopsitoarele de cadrane din fabricile de ceasuri, care erau în majoritate femei tinere, în cadrul procesului de lucru au înmuiat pensulele în salivă, apoi în substanțele luminescente amestecate cu substanțe radioactive, cu care au marcat cadranul ceasurilor, contaminându-se pe cale bucală cu săruri de radium și mezotoriu. Aceste săruri, pătrunse în organism au provocat apariția de anemii severe și tumori osoase. O dată cu descoperirea extremei toxicități a substanțelor radioactive utilizate în industria ceasurilor, au fost remediate condițiile de lucru și numărul celor intoxicați a scăzut brusc. Paralel cu contaminarea vopsitoarelor de ceasuri, au fost semnalate contaminări datorită procesului de lucru la muncitori și specialiști care au lucrat în rafinăriile de uraniu.

Între anii 1935 și 1945 numeroase persoane au fost injectate în scop medical cu un „tonic” radioactiv denumit Radiothor, care conținea radium și mezotoriu.

Soarta radiului introdus în organism a fost studiată prin experiențe pe animale și pe bolnavi intoxicați cu acest radionuclid. S-a constatat că din radiul ingerat, aproximativ 90—99% se elimină pe cale digestivă și urinară, iar

din cantitatea de radium neexcretat 95—99% este reținut în oase. Concentrația radiului în oase arată o variație în funcție de activitatea metabolică a osului și de individ (modul de reacție a individului).

Detectarea încărcării organismului cu ^{226}Ra se face prin diferite analize, printre care cele mai sensibile sînt măsurătorile externe ale radioactivității gamma rezultată din dezintegrarea radonului, metoda permițînd detectarea unei contaminări de $0,004 \mu\text{g } ^{226}\text{Ra}$.

Loone (1955) a studiat un lot de 75 de indivizi din Boston și Chicago contaminați cu radium (^{226}Ra), grup heterogen în ceea ce privește vîrsta, sexul și gradul de contaminare; 15 persoane din acest lot au primit săruri de radium cu scop medical, 28 au fost vopsitori de cadrane de ceasuri, iar restul au fost contaminați profesional la diferite locuri de muncă. Din acest lot de bolnavi, 17 aveau leziuni grave ale scheletului, din care la 15 s-au dezvoltat tumori osoase (4 benigne și 11 sarcoame). 7 din bolnavii cu sarcom aparțineau grupului bolnavilor tratați cu ^{226}Ra în scop medical, iar 4 din grupul bolnavilor au fost contaminați profesional. Perioada de latență a bolii la cele 2 grupe a fost de 15 ani, în ciuda faptului că bolnavii din grupa a doua (contaminați profesional) au reținut de 10—100 ori mai mult radium decît cei tratați în scop medical. Modificări radiologice osoase au fost observate la bolnavi cu o concentrație totală/corp a radiului de $0,4 \mu\text{g}$, modificări majore au fost observate la cei cu o concentrație de $0,7 \mu\text{g}$, iar la cei cu o concentrație de $0,8 \mu\text{g}$ sau mai mult, pe lîngă modificările menționate, au fost semnalate și tumori osoase. La aceste persoane, perioada de latență de la injectare (contaminare) pînă la apariția tumorilor a fost de 24 de ani.

Studiind relația dintre gradul de contaminare și apariția în timp a tumorilor, Martland (1931) stabilește o perioadă de latență pentru inducerea tumorilor de 5—10 ani la vopsitorii de cadrane de ceasuri, care au fost contaminați cu 6, 15 sau $50 \mu\text{g}$ de radium (^{226}Ra).

Dub (1952) raportează o perioadă de latență medie de 25 de ani la 8 persoane cu o contaminare medie de $3,4 \mu\text{g}$ de radium (^{226}Ra).

Au fost raportate și cazuri extreme, de exemplu, o femeie de 80 de ani contaminată cu $10 \mu\text{g}$ de radium, care în urmă cu 32 de ani a băut „apă radioactivă” și nu a făcut tumori osoase, iar alte persoane, contaminate cu $0,8 \mu\text{g}$ de radium au dezvoltat tumori osoase (Looney, 1959).

Studiind un lot de 150 de persoane contaminate profesional, Barrer (1963) a pus în evidență faptul că la trei pacienți contaminați cu 0,6, 0,9 și $1,69 \mu\text{Ci } ^{226}\text{Ra}$ s-au dezvoltat osteosarcoame.

Din 190 de certificate de deces ale unor lucrători cu radium, la 64 sînt menționate tumori maligne, din care: 16 osteosarcoame și 3 tumori nazale și ale sinusului nazal.

Evans (1963) prezintă un studiu pe 237 de cazuri cu contaminări profesionale și un lot de 350 de persoane în observație și în prezent. Din cei contaminați profesional, un lot de 76 de bolnavi contaminați cu ^{226}Ra cu activități între $0,23$ și $44 \mu\text{Ci}$ au prezentat modificări radiologice, respectiv toți bolnavii aveau modificări dentare, 19 persoane fracturi spontane, 23 osteosarcoame, 8 persoane cancer al sinusurilor nazale, iar 3 persoane osteomielită a maxilarului.

Într-un studiu mai recent (1967) tot Evans prezintă rezultatele obținute pe 420 de bolnave contaminate cu ^{226}Ra și mezotoriu. Două treimi din bolnavi au

fost vopsitori de cadrane, iar restul lucrători de laborator sau bolnavi contaminați prin injecții cu substanțe radioactive.

Deși concluziile în ceea ce privește supraviețuirea și apariția procentuală a neoplaziilor nu sînt încă conturate, se poate conchide că la persoanele contaminate cu o activitate sub $0,4 \mu\text{Ci}$ de ^{226}Ra apariția tumorilor maligne nu depășește semnificativ incidența normală. Din persoanele contaminate cu $1-25 \mu\text{Ci}$ ^{226}Ra , la 25% s-au dezvoltat osteosarcoame și carcinoame ale sinusurilor nazale.

Din lucrările lui Evans și ale altor autori reiese că pînă la o anumită valoare a contaminării (aproximativ $1 \mu\text{Ci}$ ^{226}Ra) nu se poate constata apariția tumorilor. Peste o concentrație de $1 \mu\text{Ci}$ se poate constata o dependență lineară între activitatea depusă și incidența tumorilor osoase maligne, ceea ce pledează pentru existența unei relații cu prag în apariția tumorilor și pentru existența unei doze minime cancerigene.

Studii interesante ne oferă Spiess (1962, 1967). Începînd cu anii 1945, aproximativ 2 000 de pacienți germani (copii și adulți) au fost supuși unui tratament cu injecții repetate de ^{226}Ra ($T_{1/2}=3,62$ zile), cu scopul de a trata tuberculoza sau spondilita anchilozantă. Tratamentul tuberculozei a fost abandonat după 4—5 ani din cauza insucceselor, dar tratamentul spondilozei a mai continuat pînă în anul 1970, anual fiind injectați aproximativ 100 de bolnavi noi.

Spiess descrie 53 de sarcoame osoase din lotul bolnavilor tratați. Incidența era independentă de sex și de gravitatea bolii (spondiloza). La doze scheletale egale și pretratate egală, copiii par puțin mai sensibili decît adulții la inducerea osteosarcoamelor. O incidență mai mare a fost observată la bolnavii cu tratament mai prelungit (protrahare).

Efectul tumorigen al radionuclizilor osteotropi (^{90}Sr , ^{45}Ca , ^{32}P), în afara sărurilor de radium, a fost experimentat și pe animale de laborator, în special pe șoareci și șobolani.

La Universitatea din Utah au fost efectuate pe cîini studii comparative în ceea ce privește efectele biologice și carcinogene ale unor radionuclizi osteotropi: radium (^{226}Ra), plutoniu (^{239}Pu), mezotoriu (^{228}Ra), radiothoriu (^{228}Th), și stronțiu (^{90}Sr). Au fost studiate toxicitatea comparativă și efectele patologice ale iradierii intense a radionuclizilor menționați. Rezultatele (pe baza dozelor medii osoase) au arătat că plutoniul și radiul sînt semnificativ mai efectivi în inducerea osteosarcoamelor decît stronțiul sau thoriul. Problemele dozimetrice ale iradierilor interne cu radionuclizi osteotropi sînt foarte dificile. Țesutul osos este un țesut foarte labil și dinamic, în permanentă modelare și reconstrucție. Factorii care influențează distribuția radionuclizilor osteotropi, respectiv doza de iradiere sînt multipli.

Experiențele pe animale urmăresc în ce măsură efectul carcinogen este influențat de următorii factori:

- calitatea și cantitatea radiațiilor;
- timpul de iradiere (iradiere unică, iradiere fracționată, iradiere protrahată);
- factori biologici (specie, sex, vîrstă, hormoni);
- eficacitatea diferiților radionuclizi osteotropi în inducerea tumorilor;
- retenția și distribuția radionuclizilor în funcție de forma lor chimică și a modului de administrare.

Aspectele modificărilor histologice osoase induse de iradierea internă (^{226}Ra) sînt similare la animalele de experiență și la om. Leziunile vasculare, urmate de ischemia parțială, par să fie responsabile pentru modificările neoplazice în oasele încărcate cu radionuclizi.

16.3.

Cancerul pulmonar

Cancerul pulmonar este cea mai veche formă de neoplazie indusă de radiațiile ionizante. Din anul 1500 este cunoscută „boala minerilor” din Ioachimov (R.S. Cehoslovacă) și din Schneeberg (R.F.G.). Minerii din aceste două locuri de exploatare minieră decedau la o vîrstă prematură cu afecțiuni pulmonare.

Deși boala minerilor a fost obiectul unor studii medicale de-a lungul anilor, numai în anul 1879, pe baza unor cercetări clinice și anatomo-patologice, Heerting a stabilit diagnosticul corect de cancer pulmonar.

Rostoski și colab. au studiat cauzele deceselor minerilor din Schneeberg în perioada 1921—1926, stabilind că 50% din decese au fost provocate de carcinome bronșice. Rezultate similare au fost raportate de Pirchman și Sike pentru Ioachimov.

Incidența foarte ridicată a carcinomului bronșic și pulmonar la Schneeberg și Ioachimov a fost atribuită pe rînd diferitelor elemente conținute în minereul polimetalifer al acestor mine ca: arsen, cobalt, cupru, agrint, bismut, magneziu etc.

Demonstrarea prezenței uraniului și a radonului în minereu a orientat studiile spre efectul radioactivității din atmosfera de lucru a galeriilor. Rolul principal al radioactivității ca factor determinant în inducerea cancerului pulmonar la Ioachimov a fost arătat prima dată de Behounek (1934), iar mai tîrziu de Rajewsky, care a studiat cazurile de la Schneeberg.

Comisiile medicale instituite între anii 1922—1930 au stabilit că 50% din minerii decedați prezentau la autopsie cancer pulmonar. Vîrsta lor la deces a fost între 33 și 69 ani, iar durata expunerii la noxele subterane varia între 13 și 23 de ani.

Pneumoconioza nu a fost mai accentuată la acești mineri decît la minerii care lucrau în mine neradioactive, ceea ce arată că nu cantitatea, ci calitatea corpurilor străini inhalați are importanță în declanșarea cancerului pulmonar.

Radioactivitatea țesutului pulmonar al minerilor decedați a fost destul de redusă (10^{-12} g radium/g țesut pulmonar), în schimb concentrația radonului în aerul galeriilor a fost cu 5×10^5 — 2×10^6 mai mare decît în aerul atmosferic.

Rajewsky și colab. (1942) afirmă că concentrația radonului în atmosfera galeriilor este în medie de 3×10^{-3} Curie/litru. În aceste condiții, epiteliul bronșic al minerilor, expus timp de 17 ani, este iradiat cu 3 000 rem (Brues, 1951).

Bale (1951) a arătat că cea mai mare parte a dozei bronșice pe care o produce radonul (^{222}Rn) își are originea în produșii săi de fisiune: radium A și radium C, care se găsesc în atmosfera minelor. Acești produși sînt absorbiți

de particule fine de praf și pe aerosoli. Pătrunzând în căile respiratorii, particulele de praf se depun pe mucoasa bronșică, formînd depozite active care determină în celulele mucoasei bronșice o intensă iradiere prin radiații X emise de substanțele radioactive vehiculate.

Wagoner și colab. (1965) a studiat frecvența cancerului pulmonar la mineri din Platoul Colorado (S.U.A.). Potrivit părerii acestor autori, creșterea incidenței cancerului o dată cu expunerea cumulativă, adică cu doza primită de celulele bronșice, este evidentă. Argumentele grupului Wagoner pentru susținerea relației dintre radioactivitatea din aerul minelor și cancerul pulmonar la mineri sînt următoarele:

- observarea unui exces de cancer pulmonar (22 de cazuri față de 5—6 prevăzute statistic);
- demonstrarea relației doză-efect;
- efectul cancerigen al radioactivității din aer s-a limitat strict la aparatul respirator;
- anatomo-patologic, cancerul minerilor s-a apropiat mai mult de cel al muncitorilor expuși agenților radiomimetici, decît de cel al fumătorilor de aceeași vîrstă din lotul de control;
- rezultatele observațiilor efectuate la mineri concordă cu rezultatele experimentale.

Studiind problema cancerului pulmonar la mineri din minele de uraniu din Germania, Seltzer (1965) ajunge la concluzia că după primul război mondial frecvența acestei boli a crescut cu 100%, atribuind această creștere diagnosticului medical mult perfecționat, precum și răspîndirii fumatului. La mineri de uraniu din S.U.A. incidența cancerului pulmonar la fumători este de 10 ori mai mare decît la nefumători.

Din păcate, datele cele mai recente sînt la fel de descurajatoare: din 1950 pînă în 1973 au fost raportate 235 de cazuri noi de cancere ale tractului respirator la mineri din minele de uraniu din S.U.A.

Observațiile clinice și epidemiologice arată că frecvența cancerului pulmonar la mineri din minele de uraniu este direct proporțională cu doza de expunere.

Se estimează că o doză de un rad absorbită de pereții bronhiilor induce aproximativ un caz de cancer pulmonar pe an la un milion de persoane.

Doza medie integrală pentru inducerea unui cancer pulmonar este aproximativ $1,3 \times 10^5$ gm rad.

O expunere la aproximativ 360 rad dublează incidența normală a cancerului pulmonar.

Cităm în continuare rezultatele unor experiențe pe animale. Astfel, Schraub și Kahlau (1943) au ținut șoarecii într-o atmosferă de radon, realizînd o activitate specifică de $1,16 \times 10^{-9}$ Curie/ml, timp de 280 de zile. Din cele 12 animale care au supraviețuit, 2 au avut cancer pulmonar, iar 7 adenoame pulmonare.

Prin inhalare de radon, Lisco și Finkel (1949) au obținut la șoareci și la sobolani adenoame și cancere bronșice.

Temple și colab. (1960) au injectat intratraheal plutoniu și ruteniu radioactiv la 422 șoareci BAF și CAF (linii cu adenoame pulmonare spontane). La loturile injectate cu $0,1 \mu\text{Ci } ^{239}\text{PuO}$ și cu $3 \mu\text{Ci } ^{106}\text{RuO}$ frecvența adenoamelor pulmonare a crescut semnificativ. La loturile injectate cu $0-2 \mu\text{Ci } ^{239}\text{PuO}$ și cu $24 \mu\text{Ci } ^{106}\text{RuO}$ frecvența adenoamelor nu a crescut semnificativ.

Yuile și colab. (1968) au expus șobolani la aerosoli de poloniu radioactiv (^{210}Po), utilizând diferite concentrații: ei au obținut o incidență a tumorilor pulmonare (în special a celor maligne) proporțională cu dozele de iradiere pulmonară. La o expunere de 70 rad, incidența tumorilor pulmonare a fost de 3% (0,75% maligne); la o expunere pulmonară de 200 rad incidența tumorilor a crescut la 10% (5% maligne), iar la o expunere de 540 rad incidența tumorilor maligne a fost de 15,4%.

Prin inhalare de ceriu radioactiv (^{144}Ce) Cember (1964) a indus cancere pulmonare la șobolani. Incidența tumorilor a fost proporțională cu doza de iradiere.

Lochetkova (1963) a injectat în traheea șobolanilor fosfor radioactiv (^{32}P), fier radioactiv (^{59}Fe), și aur radioactiv (^{198}Au) sub formă coloidală, obținând epiteliome scuamoase la cele trei loturi cu următoarea frecvență:

— 8 epiteliome din 63 de animale tratate cu ^{59}Fe (doza pulmonară 10 000 rad, timp de latență 6—8 luni);

— 11 epiteliome din 76 de animale tratate cu ^{32}P (doza pulmonară 12 000—15 000 rad, timp de latență 16—18 luni);

— 3 epiteliome din 30 de animale tratate cu ^{198}Au (doza pulmonară 12 000—15 000 rad, timp de latență 16—19 luni).

Laskin (1963) a implantat în bronhia stângă a șobolanilor tuburi mici de platină cu ruteniu radioactiv (^{106}Ru). Din 263 de animale la 68 a obținut cancere pulmonare după o perioadă de latență de 315—432 zile. Dozele de iradiere au fost între 10^3 — 10^6 rad. Cu doze mici, incidența cancerelor a fost de 7,3%, iar cu doze mari de 65,6%.

16.4.

Cancerul tiroidian

Descoperirea iodului radioactiv (^{131}I) în 1939 a revoluționat metodele de diagnostic și de tratament ale afecțiunilor tiroidiene. De la început, radioiodul a fost utilizat cu multă precauție, de teama inducerii unor procese neoplazice tiroidiene. Utilizarea lui atât în scop diagnostic, cât și terapeutic, a fost limitată la bolnavii care au depășit vârsta de 50—60 de ani.

În ultimii 30 de ani, mii de hipertiroiziieni au fost diagnosticați și tratați cu radioiod. La cei tratați, doza medie tiroidiană a fost de aproximativ 10 000—15 000 rad, iar doza medulară de aproximativ 10—20 rad.

Pe baza analizei rezultatelor obținute, primele presupuneri privind efectul carcinogen al radioiodului nu au fost justificate, fapt pentru care majoritatea clinicilor au coborât limita de vârstă privind utilizarea izotopului în diagnostic și terapie.

Lucrări recente semnalează că până în prezent nu există argumente statistice în privința inducerii cancerului tiroidian cu radioiodul folosit ca agent terapeutic la adulți. La copii și adolescenți, datele sînt prea puține pentru a se putea trage o concluzie semnificativă.

Shellne și colab. (1962) analizează un grup de 256 de bolnavi hipertiroiziieni tratați cu radioiod între anii 1946 și 1963. La opt din cei 256 de pacienți, după 8—14 ani de la tratament s-au dezvoltat noduli multipli în tiroidă. Șase din cei opt pacienți aveau sub 18 ani în timpul tratamentului. La analiza histopatologică, cu excepția unui adenom invaziv la un singur bolnav, nu s-au

evidențiat semne de malignitate în nodulii operați, fapte care atrag atenția că este necesară evitarea tratamentului cu radioiod la bolnavii în vîrstă sub 30—35 ani.

La 19 000 de bolnavi tratați cu radioiod pentru tireotoxicoză, Goldsmith (1972) nu a găsit o incidență crescută a cancerelor tiroidiene față de incidența normală. Rezultatele lui Goldsmith au fost confirmate de mai mulți autori europeni și americani.

Absența cazurilor cu cancer tiroidian se poate atribui faptului că dozele absorbite de tiroidă în cursul terapiei cu radioiod se situează între 5 000 și 15 000 rad, probabil prea crescute pentru a fi carcinogene. Aceste doze sînt aproximativ de 10 ori mai mari decît cele găsite carcinogene la copii și au fost aplicate cu un debit mult mai mic.

O altă consecință posibilă a tratamentului cu radioiod este inducerea leucemiei.

Pochin (1960) descrie 18 cazuri de leucemie dintr-un grup de bolnavi tratați în prealabil cu radioiod. Raportul lui totalizează 60 000 de bolnavi (SUA și Europa). În ciuda procentului crescut de neoplazii, Pochin nu afirmă că tratamentul cu radioiod ar fi fost factorul cauzal sau declanșator al leucemiilor observate la cei 18 pacienți.

În tratamentul cancerului tiroidian se administrează bolnavilor doze între 80 și 200 mCi radioiod. La acești bolnavi, doza medulară este de aproximativ 50—100 rad/100 μ Ci ^{131}I administrat. Urmărind un număr mare de bolnavi tratați cu doze mari și repetate, unii autori raportează apariția leucemiilor. Față de efectele pozitive ale radioterapiei, riscul inducerii leucemiei în urma tratamentului pare a fi justificat (Van Cleave, 1968).

Date interesante privind efectul carcinogen al radioiodului sînt furnizate de Comisia pentru Studiul Efectelor Bombelor Atomice. Experții Comisiei au constatat o creștere a cancerelor tiroidiene la indivizii iradiați în 1945 la Hiroshima și Nagasaki, au demonstrat o incidență crescută a cancerului tiroidian pe o perioadă de 20 de ani după expunere, la toate grupele de vîrstă. La 3 696 de persoane autorii au descris 23 de cancere, ceea ce reprezintă o incidență de 0,62%. Histologic, aceste cancere au fost bine diferențiate (adenocarcinoame papilifere și foliculare). Frecvența cancerelor tiroidiene era de două ori mai mare la persoane care aveau sub 20 de ani în momentul expunerii.

Mai concludente sînt datele persoanelor contaminate și iradiate cu ocazia exploziilor atomice din 1954 în atolul Bikini și în 1953 în deșertul Nevada (USA).

În primul caz, căderile radioactive au contaminat insulele Marshall, în special insula Rongelap. Prin determinări radiometrice ale activității gamma la Rongelap și prin determinări ale radioactivității urinare a iodului radioactiv (^{131}I) eliminat la copii între 3 și 4 ani, Ralph și Gofman au estimat că doza totală tiroidiană (iradiere externă + internă cu radioiod) a fost în medie între 700 și 1 400 rad.

În 1969 după 15 ani de la iradiere, la un lot de 19 copii contaminați (care în timpul exploziei aveau sub 10 ani), 15 au dezvoltat tumori tiroidiene, iar dintr-un alt lot, de 34 de adulți, la 3 au apărut tumori tiroidiene. Majoritatea acestor tumori au fost noduli tiroidieni adenomatoși, cu excepția a trei tumori maligne (carcinoame).

În cazul exploziei din deșertul Nevada, au fost contaminați copii sub 5 ani cu radioiod corespunzînd unei doze tiroidiene de 30—240 rad. Din 1 378

de copii, la 18 ani au fost depistate tumori benigne tiroidiene la 15 ani după iradiere.

Efectul carcinogen al radioiodului a fost studiat și pe animale de experiență (Doniach, 1958; Potter, Lindsay, Chaikoff, 1960).

Doniach (1958) a injectat șobolani de 2—3 luni cu 30 μ Ci radioiod. Această doză corespunde unei iradieri de aproximativ 10 000—15 000 rad pe tiroidă (doză necesară pentru tratamentul hipertiroidiei). Animalele au fost sacrificate la 13—15 luni după injectarea radioiodului. Autopsiile au arătat că radioiodul a indus adenoame la 40% din animalele tratate. Dacă după radioiod animalele au fost tratate timp îndelungat și cu metiltiouracil, proporția adenomelor multiple în tiroidă a crescut la 90%. Dintr-un lot de 48 de șobolani astfel tratați, Doniach a găsit 11 carcinoame tiroidiene. Dacă animalele au fost tratate numai cu metiltiouracil timp de 15 luni, 80% au dezvoltat adenoame, dar nu carcinoame.

Doniach presupune că celulele lezate de iradiere, inițiate spre cancerizare, au fost promovate spre formarea tumorilor prin stimularea secreției de TSH consecutiv administrării substanțelor gușogene (metil-propil-tiouracil).

Autori ca Potter, Lindsay și Chaikoff (1960) presupun că dozele mari de radioiod reduc semnificativ răspunsul tiroidei față de TSH. Nivelul TSH în cazul animalelor iradiate cu aproximativ 15 000 rad tiroidă a fost sensibil mai puțin crescut decât la cele tratate cu substanțe gușogene.

Potter, Lindsay și Chaikoff (1960) au raportat inducerea tumorilor benigne și maligne ale tiroidei la șobolani Long-Evans (care dezvoltă și spontan tumori tiroidiene) injectați cu doze unice sau multiple de radioiod. Incidența cea mai mare a fost găsită la șobolanii injectați cu doze unice de 25 μ Ci sau cu 10 μ Ci pe lună, timp de 4 luni. Animalele au fost injectate la vârsta de 8 săptămâni și au fost autopsiate după 2 ani. Administrând doze mari de ^{131}I (200—400 μ Ci) incidența cancerului tiroidian a fost semnificativ redusă la aceste animale, la care tiroida a fost aproape complet distrusă. Tesutul tiroidian rezidual a devenit refractar la stimularea cu TSH.

Doniach (1957) a stabilit că la șobolani Lister iradierea externă cu 110 rad (Rx) are același efect tumorigen ca o doză unică de 30 μ Ci radioiod administrat peroral sau intraperitoneal. Autorul nu a găsit diferențe semnificative în răspunsul animalelor tinere comparativ cu cele adulte, la cele două tipuri de iradiere.

Goldberg și Chaikoff (1950—1952) nu au găsit modificări semnificative în tiroida șobolanilor injectați cu 18 μ Ci ^{131}I . Mărind dozele, ei au constatat că o doză de 300 μ Ci ^{131}I determină necrozarea glandei, dar regenerarea țesutului este posibilă la acest nivel de iradiere. După o perioadă de 18—24 luni, toate animalele care au primit o doză de 400 μ Ci radioiod erau purtătoare de adenoame tiroidiene multiple, care se malignizau în proporție de aproximativ 25%.

Administrarea iodului radioactiv la câini a indus, de asemenea, apariția neoplasmelor tiroidiene.

Marks și Bustad (1963) au introdus zilnic în hrana oilor radioiod în diferite doze (1, 5, 40 și 135 μ Ci), timp de 15 luni. Radioiodul a fost administrat prima dată oilor gestante și apoi mieilor nou-născuți. Din cele 90 de animale tratate cu această schemă, 60 au făcut tumori tiroidiene (adenoame, epiteliome, fibro-sarcoame).

16.5.

Tumori antehipofizare

Studiind efectele tardive ale administrării radioiodului la șoareci, Gorman (1949) a admis ca posibilă apariția tumorilor în tiroidă, dar a constatat că ele apar de asemenea în partea anterioară a hipofizei la animalele tratate cu doze mari. După 250 de zile, greutatea hipofizei atinge în medie 34,7 mg (chiar 232 mg) în loc de 2,1 mg (martori). Hipertrofia glandei poate provoca apariția fenomenelor de compresie.

În publicații ulterioare, același autor stabilește că dezvoltarea acestor tumori cu celule cromofobe este frenată de injecții cu tiroxină și prevenită prin grefe de glandă tiroidă.

16.6.

Cancerul uterin

Lacassagne și Nyka (1945) au introdus tuburi de radon de 0,6 și 0,9 μ Ci după laparotomie în coarnele uterine ale iepurilor adulți. La 3 din 8 animale care au supraviețuit mai mult de un an au apărut tumori maligne uterine, un adenocarcinom (după 13 luni) cu metastaze pulmonare și două leiomiosarcoame generalizate după 26, respectiv 49 luni.

16.7.

Cancerul hepatic

În 1931, Daels și Biltris au raportat primul caz de cancer hepatic prin introducerea în ficatul cobailor a clorurii de radiu. După o perioadă de latență de 8—24 luni, la aceste animale s-au dezvoltat colangiocarcinoame.

În 1933, Oberling și Guérin au dovedit experimental pe șoareci, iepuri și cobai, că thoriul se concentrează în celulele Kupffer ale ficatului și că Thorotrastul (dioxid de toriu coloidal) injectat intraperitoneal sau subcutanat, după o perioadă de latență de 10—17 luni determină, la 70% din animalele tratate, apariția sarcoamelor hepatice.

Aceste experiențe au fost confirmate de Guimaraes și colab. (1955) care au indus hepatoame la șobolani prin administrarea de Thorotrast.

În ciuda rezultatelor amenințătoare obținute experimental (1933), Thorotrastul a mai fost utilizat în clinică timp de 10—15 ani (1930—1945).

În 1947 a fost publicat primul caz de radiocancer uman indus de Thorotrast, un endoteliosarcom al ficatului, iar în 1951 primul carcinom al ficatului.

Începând cu anul 1950 au fost descrise din ce în ce mai multe cazuri noi de neoplazii induse de toriu: sarcoame după injectare subcutanată, epiteliome și sarcoame după injectarea Thorotrastului în cavități sau conducte (rinichi, sinus maxilar, bronșii etc.) și sarcoame hepatice după injectare intravenoasă (Lacassagne, 1957; Looney, 1960; Blomberg, 1963).

Tumori hepatice au fost induse experimental cu ajutorul radio-aurului coloidal (^{198}Au) de Hahn (1951) la câini și de Harel (1953—1956) la șoareci. La cele 64 de animale care au supraviețuit peste 11 luni de la injectarea radioau-

rului, Harel a găsit 21 de animale cu tumori hepatice benigne și 23 cu tumori maligne.

Upton (1956) a confirmat datele lui Harel pe șobolani, obținând hepatoame după un tratament cu radioaur.

16.8.

Cancerul aparatului digestiv

Este interesant de remarcat că substanțele radioactive utilizate de vopsitorii de cadrane de ceasuri nu au indus cancere ale aparatului digestiv, deși muncitorii au fost contaminați pe cale bucală.

Absența cancerelor gastrice sau intestinale se poate explica prin faptul că substanțele radioactive solubile sînt absorbite repede, iar cele insolubile sînt eliminate prin fecale. În acest sens pledează și experiențele lui Laska (1910) și Emsmann, care au administrat iepurilor prin sondă thoriu X, pe care, după un interval scurt de timp l-au detectat în aerul expirat și în urina animalelor.

Cotelle și Lacassagne (1938) au administrat șoarecilor 25 UES poloniu radioactiv peroral, constatînd că numai o foarte mică parte a radionuclidului a fost absorbită prin mucoasa tractului gastro-intestinal, restul fiind eliminat prin fecale. Substanța absorbită s-a concentrat selectiv în glanda mamară, fiind eliminată prin procesul de lactație.

Melnikov (1963) a introdus la trei maimuțe în glanda parotidă și maxilară superioară ace de argint radioactiv (^{110}Ag) de 0,82—11,09 μCi , iar la alte patru animale perle de cobalt (^{60}Co) cu activități corespunzătoare. În fiecare grupă de animale autorul a găsit două cancere după o perioadă de latență de 569—1 044 de zile. În afara sarcoamelor, a găsit și epiteliome la aceste animale.

Unii autori au reușit să obțină experimental cancere radio-induse ale stomacului, intestinului subțire și colonului.

Administrînd aur coloidal radioactiv șobolanilor, Harel și colab. (1956) au detectat două epiteliome glandulare ale pilorului după o perioadă de latență de 11 luni la cele 63 de animale supraviețuitoare.

Administrînd peroral șobolanilor ^{91}Y , Lisco-Brues, Finkel și Grundhauser (1947) constată că acest produs de fisiune, emițător beta pur de 1,5 MeV, nu este absorbit, dar datorită stazei din colon provoacă în această regiune maximum de perturbări. Doza de 1—6 μCi de ^{91}Y introdusă în stomac induce epiteliom glandular al colonului la 4 din 33 de animale, la un interval de timp cuprins între 35 și 506 zile de la administrare. În cazul celorlalte animale, mucoasa intestinului gros prezenta hiperplazie sau ulcere cronice. În al doilea grup, de 78 de șobolani care au primit doze totale de 31,2; 15,6 și 4,08 μCi , fracționate și etalate pe o perioadă de 3 luni, au apărut epiteliome de colon la 6 din 8 animale care au primit doze mari.

16.9.

Cancerul renal

Situat în profunzimea regiunii lombo-abdominale, rinichiul nu a fost de loc lezat de radiațiile ionizante în cursul perioadei eroice a radiologiei și nu s-au observat „cancere profesionale” ale acestui organ la radiologii sau tehnicienii expuși radiațiilor.

Mai târziu, au fost administrate bolnavilor doze importante de radiații penetrante, dar nu a fost înregistrat nici un cancer renal „terapeutic”.

La om, singurele cancere de rinichi care pot fi puse pe seama radiațiilor ionizante sînt radiocancerele „diagnostice” determinate de utilizarea unei soluții de dioxid de thoriu (Thorotrast), utilizat mai de mult în explorare, datorită imaginilor bune de contrast obținute cu acest produs. S-au observat mai ales cancere de ficat: totuși, au fost semnalate și cîteva cazuri de cancer de rinichi (Batzenschlager, 1961). Latența este de 15—30 de ani.

Primul caz, publicat de Zollinger în 1949, era un sarcom fibroblastic, iar toate celelalte erau epitelioame. În aproape toate cazurile, Thorotrastul a fost utilizat pentru pielografii ascendente.

Experimental au fost obținute tumori maligne prin introducerea unor radioelemente în corpul animalelor (Daels și Biltris, 1931—1933).

Harel și colab. (1956) au indus tumori maligne injectînd o soluție coloidală de aur radioactiv la șobolani; au observat, la cele 63 de animale care au supraviețuit mai mult de 11 luni, 23 de tumori maligne, din care 10 hepatoame și un sarcom renal apărut după 16 luni.

16.10.

Leucemii și limfoame

Efectele leucemogene ale radiațiilor X și gamma sînt bine studiate și documentate (Kaplan și Brown, 1952; Kaplan, 1964; Uptom, 1964, 1966).

Leucemia este în prezent neoplazia cel mai larg răspîndită, în a cărei etiologie radiațiile ionizante figurează ca unul din factorii principali.

Literatura de specialitate tratează pe larg leucemiile induse de radiații la medicii radiologi, la supraviețuitorii de la Hiroshima și Nagasaki, la bolnavii iradiați pe coloana vertebrală pentru spondiloză, la copiii iradiați *in utero* etc.

În privința efectului leucemogen al substanțelor radioactive naturale și artificiale, datele sînt mai puțin numeroase.

Pochin (1960) semnalează 18 cazuri de leucemie la un grup de 60 000 de bolnavi tratați cu doze mari și repetate de radioiod.

Aceste observații au fost confirmate și de alți autori (vezi cancerul tirodian).

La sfîrșitul deceniului al 4-lea, s-a demonstrat că eritropoieza patologic crescută (poliglobulia) poate fi controlată timp îndelungat prin administrarea repetată de fosfor radioactiv, care se concentrează selectiv în oase. Acest tratament a prelungit durata de viață a bolnavilor cu aproximativ 12 ani după stabilirea diagnosticului (Lawrence, 1953). S-a observat că la aproximativ 10—20% din bolnavii policitemici, tratamentul cu ^{32}P a indus leucemii. Molcan și Lilienfeld (1965) stabilesc că aceste leucemii sînt radio-induse și nu apar din cauza prelungirii supraviețuirii datorită tratamentului.

Efectul citogenetic al iradierii interne cu ^{32}P a fost apreciat de Olinici și Uray (1979) prin testul micronucleilor, care a demonstrat existența unei corelații nete între doza de ^{32}P administrată și incidența micronucleilor în măduva hematogenă.

Anderson și Goldman (1962) au găsit că administrarea stronțului radioactiv (^{90}Sr , izotop osteotrop) crește frecvența leucemiilor la ciîni și porci.

O corelație între iradierea internă sau externă cu substanțe radioactive naturale sau artificiale și posibilitatea apariției neoplaziei a fost descrisă și docu-

mentată la populații umane, precum și la animale de experiență de specii diferite.

Relații precise între incidența neoplazică și doza de iradiere nu pot fi stabilite pentru nici un cancer radio-indus, dar datele clinice și experimentale sugerează o relație directă între doză și incidență.

Efectele carcinogene ale radiațiilor emise de substanțele radioactive sînt influențate de *factori biologici* (specie, vîrstă, sex, status hormonal, alimentație etc.), de *factori chimici* și biochimici (forma chimică, solubilitate, viteză de metabolizare, $T_{1/2}$ biologic, organotropism etc.) și de *factori fizici* ($T_{1/2}$ fizic, tipul radiațiilor emise, eficacitatea biologică relativă, doza totală, repartiția dozei totale pe organismul întreg și pe organe, debitul dozei, iradiere unică sau fracționată etc.).

Diferențele mari constatate în apariția cancerelor induse de substanțele radioactive la diferite specii, sugerează prezența unui control genetic în inducerea tumorilor prin iradiere, fapt care impune multă prudență în extrapolarea rezultatelor experimentale la om.

Bibliografie

- BOICE I. D., FRAUMENI I. F. — Radiation Carcinogenesis: Epidemiology and Biological Significance. (Progress in Cancer Research and Therapy. Vol. 26) Raven Press, New York, 1984.
- * * * — Biology of Radiation Carcinogenesis, Ed. by I. M. Juhas, R. W. Tennant, J. D. Regan, Raven Press, New York, 1971.
- FABRIKANT I. — Radiobiology, Medical Publ. Inc., Chicago, 1972.
- LACASSAGNE A., GRIGOUROFF G. — Effets cancérigènes des rayonnements ionisants, in: Radiobiologie Appliquée (Red. Loiseleur J.), vol. II, ed. Cauthier-Villars, Paris, 1966, p. 583–646.
- MAYS CH. W. — Cancer induction in man from internal radioactivity, Health Physics, Pergamon Press, 1973, 25, p. 585–592.
- RACOVEANU N. — Efectul cancerigen al radiațiilor ionizante, În: Radiobiologia (Red. Racoveanu N.), Ed. științifică, București, p. 314–326.
- * * * — Scientific foundations of Oncology, Ed. by T. Symington and R. L. Carter, William Heinemann Medical Books Ltd., Londra, 1976.
- * * * — United Nations, Annex 4, Radiation Carcinogenesis in Man, vol. II, United Nations, New York, 1979, p. 402.
- UPTON A. C. — Radiation injury. The University of Chicago, Press, Chicago-Londra, 1969.
- VAN CLEAVE CH. D. — Late somatic effect of ionizing radiations, Ed. US Atomic Energy Commission, Div. of Technical Information, Oak-Ridge, Tenn., 1968.
- VÁRTERÉSZ V. — Die karzinogenen und leukämogenen Wirkungen der ionisierenden Strahlen, In: Strahlenbiologie (Red. Várterész V.), Ed. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1966, p. 425–441.
- YUHAS I. M., TENNANT R. W., REGAN I. D. — Biology of Radiation Carcinogenesis. Raven Press, New York, 1978.

17.

Alimentația și cancerul

I. CHIRICUȚĂ

Cuprins

- 17.1. Relația dintre nutriție și carcinogeneza experimentală — 484
 - 17.1.1. Corelația dintre supraalimentație (obezitate) și cancer — 485
 - 17.1.2. Supraalimentația cu proteine și lipide — 485
 - 17.1.2.1. Rolul lipidelor în cancerogeneza — 486
 - 17.1.3. Rolul vitaminelor — 487
 - 17.1.3.1. Vitamina A — 487
 - 17.1.3.2. Vitamina B₁ (tiamina) — 487
 - 17.1.3.3. Vitamina B₂ (riboflavina) — 487
 - 17.1.3.4. Vitamina C (acidul ascorbic) — 488
 - 17.1.4. Rolul substanțelor anorganice (oligoelemente) — 488
 - 17.1.5. Rolul inductorilor enzimatici și antioxidanți — 488
- 17.2. Relația dintre nutriție și cancer în clinica oncologică — 489
 - 17.2.1. Alimentația și cancerul esofagian — 492
 - 17.2.2. Cancerul gastric și alimentația — 492
 - 17.2.3. Cancerul colo-rectal și alimentația — 497
 - 17.2.4. Cancerul hepatic — 501
 - 17.2.5. Alimentația și cancerul de endometru — 501
 - 17.2.5.1. Obezitatea și ciclurile anovulatorii — 502
 - 17.2.5.2. Convertirea periferică a androstendionei în estronă — 502
 - 17.2.5.3. Studii epidemiologice — 503
 - 17.2.6. Alimentația și cancerul mamar — 504
- 17.3. Concluzii — 507

Afirmația lui Wynder că „lumea este laboratorul epidemiologului“ devine cât se poate de valabilă atunci când urmărim relația existentă între apariția cancerului și modul de alimentație a diferitelor populații. Relația este ușor de constatat în cancerele digestive (hepatic, gastric și colo-rectal), dar ea este întrevăzută și în cancerele extradigestive (cancerele de sân și de corp uterin).

Faptul că în SUA se înregistrează în ultimii 30 de ani o scădere impresionantă a cancerului gastric (fig. 17.1), fenomen care nu poate fi explicat decât prin îmbunătățirea (raționalizarea) modului de alimentare a populației, întărește și mai mult ideea unei legături strânse între alimentație și cancer.

Epidemiologii își pun însă întrebarea dacă nu cumva există o relație și mai generală între alimentație și cancer.

Data fiind complexitatea problemei, din punct de vedere didactic vom expune mai întâi datele obținute la animale (relația nutriție-carcinogeneză experimentală) și apoi vom trece în revistă factorii epidemiologici constatați în clinica oncologică umană (relația nutriție-carcinogeneză umană).

Fenomenul studiat este foarte complex, deoarece pe lângă faptul că se înregistrează modificări metabolice (generale sau locale de organ) induse de anu-

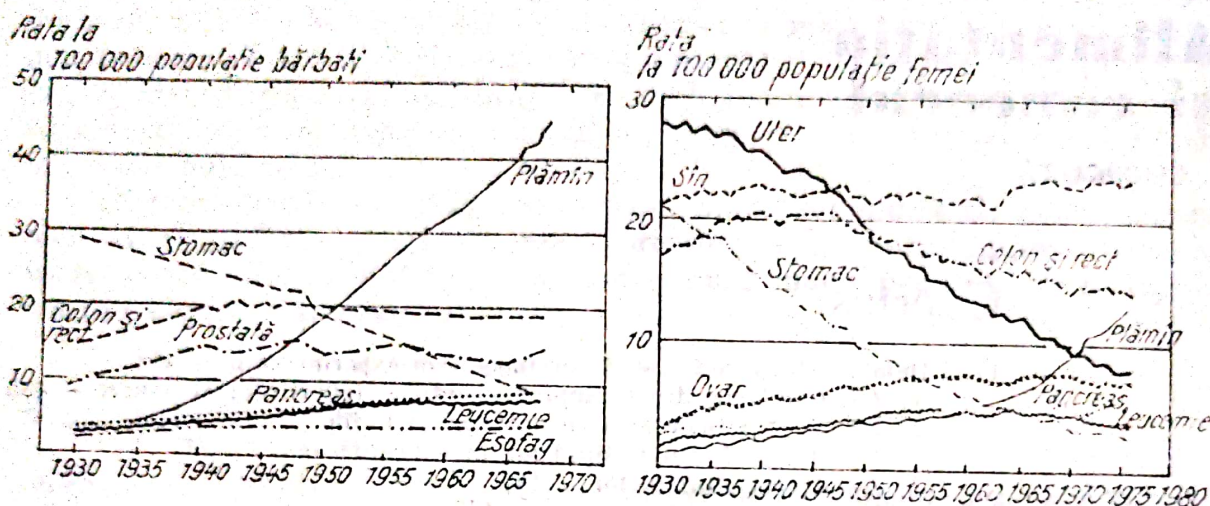


Fig. 17.1. — Rata mortalității prin cancer în SUA între 1930 și 1968 (Silverberg E și Holleb I.A. Cancer statistics 1972 — American Cancer Society)

mite tipuri de alimentație (predominant proteică, lipidică, hidrocarbonată sau existența unor oligoelemente), există și posibilitatea poluării alimentației cu aditivi alimentari, conservanți sau coloranți, care ar fi prin ei înșiși substanțe cancerigene. De exemplu, se discută nocivitatea nitriților utilizați în conservarea cărnii sau îndepărtarea din prepararea alimentelor a unor coloranți, așa cum s-a făcut mai de mult cu galbenul de unt — DAB (paradimetilazobenzen), dovedit a fi sigur cancerigen; acesta fusese odinioară utilizat ca înlocuitor al șofranului natural, adus atât de greu din Orient. Se discută foarte intens poluarea prin fermentare a unor alimente cu ciuperca *Aspergillus flavus*, producătoare de aflatoxină, agent cert cancerigen hepatic, ca și poluarea alimentelor cu nitrozamine sau pesticide și fungicide, dovedite experimental a fi cancerigene.

Indiferent de contradicțiile numeroase existente între experiențe axate pe ipoteze similare, un fapt trebuie reținut și anume că modificările regimului alimentar pot schimba considerabil incidența tumorilor la animale.

Este cazul să ne întrebăm dacă nu cumva există și la om cancere induse de diete deficitare (carențate) sau prea încărcate cu anumite principii și să nu scuzăm totdeauna apariția cancerului ca fiind un efect neîndoielnic al conflictului dintre organism și anumiți cancerigeni din mediul ambiant. Alimentația rămâne un parametru esențial înțelegerii fenomenului cancer.

Ținând seama de complexitatea temei și de aspectele încă neelucidate, este firesc ca expunerea noastră să aibă pe alocuri lipsuri; sperăm însă să surprindem totuși esențialul acestei probleme atât de mult discutată.

17.1.

Relația dintre nutriție și carcinogeneza experimentală

Vom face expunerea pe baza studiului de sinteză întocmit de Claysen (1975).

Experimental au fost urmărite următoarele aspecte:

- corelația dintre obezitate (supraalimentație) și cancer
- supraalimentația cu proteine și lipide
- rolul vitaminelor
- rolul substanțelor anorganice (iod, cupru, seleniu etc.)
- rolul inductorilor enzimatici și antioxidanți.

Vom expune succint concluziile acestor studii:

17.1.1.

Corelația dintre supraalimentație (obezitate) și cancer

Pornind de la observația că persoanele obeze (supraponderale) dau un procent mai mare de decese prin cancer decât persoanele slabe, Tannenbaum (cit. de Claysen, 1975), a încercat să verifice experimental acest fapt.

Astfel, reducerea calorică (dieta restrictivă) a scăzut procentul de apariție a tumorilor la șoareci și șobolani, fie tumori induse prin virusuri (virusul tumorii mamare la șoarecii DBA și C₃H), fie tumori spontane (cancerale pulmonare apărute spontan la șoarecii Swiss).

Prin scăderea numai a aportului hidrocarbonatelor din dietă, reducerea calorică, a determinat întârzierea apariției unor tumori la șoarecii DBA.

Nu se cunosc mecanismele prin care reducerea dietei inhibă formarea tumorilor (Claysen, 1975). Experimental se constată însă unele fenomene bizare și anume: hipotermia (ținerea șoarecilor într-un mediu rece de 7—12°C), dinitrofenolul sau fluorura de sodiu întârzie apariția tumorilor mamare la șoarecii DBA.

Se poate induce la șoarece o stare de obezitate severă (dublarea greutateii) prin administrarea unor substanțe chimice specifice (de exemplu, tioglucosa aurică), care induc leziuni hipotalamice. La animalele cu o obezitate astfel indusă se constată o creștere mare a incidenței cancerelor mamare.

17.1.2.

Supraalimentația cu proteine și lipide

Ingerarea de diete izocalorice conținând niveluri de proteine variind între 9 și 45% nu a reușit să influențeze incidența tumorilor mamare la șoarecii DBA și C₃H. Ingerarea de diete cu nivel crescut proteic protejează ficatul împotriva hepatoamelor induse cu DAB (galben de unt) (Claysen, 1975).

Din proteine, caseina pare să protejeze cel mai bine ficatul contra cancerigenilor; în plus se înregistrează și o prelungire a vieții șobolanilor alimentați cu caseină. S-a observat și faptul paradoxal că pentru a mări protecția ficatului contra cancerigenilor dieta hiperproteică dă rezultate și mai bune dacă, din când în când, animalele sînt ținute la post total câteva zile, după care este reluată dieta hiperproteică. Nu se cunoaște încă explicația acestui fenomen.

Dietele care nu conțin substanțe lipotropice în cantitate suficientă cresc sensibilitatea ficatului la carcinogenii chimici: DBA, aflatoxina B₁, dietil-ni-

trozamina. Explicația ar consta în faptul că dieta deficitară de factori lipotropi reduce activitatea enzimelor metabolizante hepatice (aminopirendimetilaza, p-nitro-dimetilaza și hidroxilaza) și crește activitatea mitotică a ficatului (Claysen, 1975).

Amintim că dietele deficitare de factori lipotropi sînt carentate de colină și metionină.

Dieta hiperproteică are dezavantajul că facilitează apariția papiloamelor vezicale la șobolani (probabil prin creșterea eliminărilor triptofanului prin urină). La cîine și șobolan administrarea unei diete cu un exces de D.L.-triptofan (o cantitate de 7 ori mai mare decît în dieta obișnuită), determină o hiperplazie a mucoasei vezicii urinare „in toto”.

Este știut că în degradarea metabolică normală a triptofanului apar produși intermediari care au proprietăți cancerigene (acid kinureic; 3-hidroxi-4-kinureină; acid 3-hidroxiantranilic).

În mod normal, datorită unor enzime, acești produși potențial cancerigeni sînt rapid inactivați prin procesul de metabolizare. Prin vicii de metabolism (carențe enzimatice) sînt evacuați în urină, avînd un potențial cancerigen.

17.2.1.

Rolul lipidelor în cancerogeneză

Claysen (1975) citează experiențe în care incidența tumorilor cutanate induse la șoareci prin dibenz-(a, h) antracen (DBA) a crescut atunci cînd grăsimile au depășit 15% în dietă.

Utilizînd la loturi diferite de șoareci diete echicalorice, dar cu conținut diferit de grăsimi, Tannenbaum (citată de Claysen, 1975) a constatat că dacă producerea caloriilor are loc prin metabolizarea lipidelor, atunci incidența tumorilor de piele crește semnificativ. În schimb, nu se constată nici o influență asupra creșterii sarcoamelor sau adenoamelor pulmonare.

Concluzia este că nu numai cantitatea crescută de calorii contează, ci și sursa lor (lipide, hidrocarbonate sau proteine). În cadrul grăsimilor există diferențe între diferite lipide. De exemplu, șobolanii la care s-a administrat DBA fac mai frecvent hepatoame dacă consumă și ulei din cereale.

S-a susținut că lipidele care facilitează mai puțin carcinogeneza, în comparație cu lipidele care stimulează evident carcinogeneza, determină acumularea în ficat a riboflavinei, fapt care va permite hepatocitului sporirea cantității de enzime detoxifiante.

La șobolani pot fi induse experimental tumori colice cu azoximetan. Dacă dieta conține peste 35% grăsimi de vită, incidența tumorilor colice este intensificată. Nu s-a precizat dacă numai grăsimea de vită facilitează fenomenul sau toate grăsimile.

Tot experimental, la șobolani, s-a stabilit că uleiurile vegetale extrase din semințe necoapte de bumbac sau din *Sterculia foetida*, devin veritabili cocancerigeni, facilitînd carcinogeneza hepatică prin administrare de aflatoxină B₁. Nu același efect cocancerigen al acestor uleiuri s-a înregistrat și la inducerea cancerului prin dietă-nitrozamină.

17.1.3.

Rolul vitaminelor

17.1.3.1.

Vitamina A

Se știe că deficiența vitaminei A determină modificări distrofice ale epiteliilor respiratorii și vezicii urinare. Din cauză că animalele ajunse în această stare sînt foarte sensibile la infecții, nu s-a putut încerca pe ele efectul cancerigen al unor substanțe recunoscute că ar induce cancerul.

S-a atacat atunci problema pe latura opusă, constatîndu-se efectul protector al administrării vitaminei A în inducerea cancerelor cutanate prin hidrocarburi cancerigene.

Experiențele lui Chu și Malmgren au arătat efectul protector al vitaminei A asupra leziunilor discheratozice și asupra cancerizării esofagului, stomacului și intestinului prin DMBA (dimetil-benzantracen) și benz(a)piren (BaP). Experimental s-a constatat că nivelul scăzut al vitaminei A intensifică activitatea carcinogenilor intestinali (Lowenfels, 1977).

În opoziție cu vitamina A, hidroclortizonul grăbește apariția tumorilor.

Se presupune că efectul protector al vitaminei A în carcinogeneză s-ar face prin intermediul lizozomilor.

Cercetările lui Schmäl (citată de Claysen, 1975) nu confirmă întru totul aceste date, demonstrînd uneori o intensificare a oncogenezei prin administrare de vitamina A.

S-a constatat experimental că vitamina A nu conferă nici o protecție în inducerea tumorilor neurogene prin nitrozometil-uree și nici în inducerea hepatomelor prin dibutil-nitrozamine.

În concluzie, cu toate că unele experiențe arată efectul protector al vitaminei A, contradicțiile existente în numeroasele experiențe efectuate nu au favorizat utilizarea în clinică a vitaminei A ca protector anticanceros. Cercetările continuă.

17.1.3.2.

Vitamina B₁ (Tiamina)

Sînt citate experiențe interesante, dar neconcludente. Claysen (1975) citează experiențe în care blocarea tiaminei în hrana șobolanilor (tiaminaza prezintă în ferigă distruge tiamina) a determinat apariția în proporție mare a tumorilor intestinale și rar (10%) a dus la apariția tumorilor vezicale. Paradoxul vine dinspre faptul că administrîndu-se tiamină acestor animale, numărul tumorilor vezicale a crescut (?).

17.1.3.3.

Vitamina B₂ (Riboflavina).

Experimental, riboflavina a inhibat formarea tumorilor hepatice induse prin DAB (diazobenzen), fiind un cofactor al unor enzime detoxifiante.

17.1.3.4.

Vitamina C (acidul ascorbic).

Există opinia (neconfirmată total) că vitamina C în doze foarte mari putând inhiba hialuronidaza, ar crește rezistența țesutului conjunctiv, fapt care ar facilita stroma-reacția, împiedicând astfel difuziunea cancerului.

În doze mari vitamina C este deja utilizată în clinica oncologică.

O acțiune mai interesantă a vitaminei C este acțiunea inhibantă (in vitro și in vivo) asupra nitrozării aminelor, împiedicând astfel formarea nitrozaminelor (substanțe puternic cancerigene) în organism. Acest efect verificat al vitaminei C este în prezent utilizat în clinica oncologică, fiind singura medicație, pe care o putem opune ingerării de nitriți, atât de larg utilizați în conservarea alimentelor și împiedicării transformării lor în organism în nitrozamine.

Se pare că și acțiunea laptelui, de blocare a formării nitrozaminelor, se explică tot prin conținutul crescut de vitamina C a acestui produs alimentar.

17.1.4.

Rolul substanțelor anorganice (oligoelemente)

Subiect foarte discutat, a dat naștere la numeroase speculații, unele cu răsunet de moment în clinica umană (de exemplu, utilizarea sărurilor de magneziu ca anticancerigen, delbiaza utilizată odinioară de marele chirurg francez P. Delbet).

Iodul. Se știe că un regim carentat de iod duce la formarea tumorilor tiroidiene (gușa coloido-chistică). Dacă la regimul carentat de iod se adaugă și un carcinogen (FAA sau N-2-fluorenil-acetamidă) sau se iradiază tiroida, tumoarea tiroidiană apărută se malignizează (experiment citat de Claysen, 1975).

Cuprul. Administrarea în exces a sărurilor de cupru întârzie apariția hepatoamelor induse de galbenul de unt (DAB).

De asemenea, sărurile de cupru oferă rinichilor o protecție contra cancerizării lor prin DMN (dimetil-nitrozamină).

Toate aceste experiențe trebuie verificate.

Seleniul. Cu toate că este un puternic antioxidant și prin urmare teoretic ar putea inhiba carcinogeneza, încercările efectuate nu au dat rezultate concludente.

Zincul. Deficiența de zinc facilitează apariția tumorilor experimentale, iar administrarea de zinc inhibă formarea ADN în hepatoamele experimentale.

17.1.5.

Rolul inductorilor enzimatici și antioxidanți

Un număr relativ mare de compuși organici au un efect inductor față de unele enzime metabolizante, exprimat printr-o creștere a cantității unei enzime în prezența unui anumit agent inductor. Acest efect a fost evidențiat la hidrocarburile aromatice policiclice, derivații clorurați ai hidrocarburilor, chione și barbiturice. Substanțele cu efect inductor enzimatic, fie că sînt sau nu în mod direct cancerigene, influențează profund carcinogeneza indusă de un alt agent (Claysen, 1975).

Antioxidanții întrebuințați ca aditivi alimentari pentru prevenirea rănirii, în special compușii butiril-hidroxi-anisol (BHA) di-butilil-hidroxi-toluen (BHT) și etoxiquinul, datorită faptului că au efect inductor, au fost cercetați pentru acțiunea lor posibilă în procesul de carcinogeneză.

Experiențele au dus la concluzia că antioxidanții menționați au avut totdeauna un efect protector apreciabil față de agenții cancerigeni cunoscuți ca: DAB, DBA, DMBA, B(a)P, FAA, dietil-nitrozamină, 4-nitrochinolin-1-oxid și uretan (de exemplu, numărul de adenoame pulmonare induse la șoarecii femele linia A prin 4-nitrochinolinoxid a fost redus semnificativ prin administrare de BHA sau etoxiquin, experiment citat de Claysen, 1975).

Mecanismul de acțiune al antioxidanților în carcinogeneză nu a fost elucidat. Wattenberg a sugerat că aceste substanțe pot acționa atât printr-un efect inductor enzimatic, cât și prin proprietățile lor antioxidante.

17.2.

Relația dintre nutriție și cancer în clinica oncologică

Din datele experimentale expuse în capitolul anterior rezultă concluzia că alimentația influențează evident cancerogeneza animalelor, existând particularități în funcție de componența dietei și de rasa animalului.

Epidemiologia cancerelor umane pune, de asemenea, în evidență relația existentă între nutriție și cancer. S-au studiat diferite aspecte ale acestei relații și s-a ajuns la concluzia că dieta poate influența cancerogeneza umană prin diferite mecanisme (A. Lowenfels și. a., 1977).

Conținutul caloric al dietei. Toate statisticile subliniază faptul că mortalitatea prin cancer (la oameni) este semnificativ mai mare la populația care avea 25% supragreutate, în comparație cu subponderalii.

La diete echicalorice contează foarte mult raportul existent între caloriiile furnizate de proteine, grăsimi și glucide.

S-au imaginat chiar diete „ideale” protectoare teoretic contra cancerului.

De exemplu, Mittmann (1961), studiind mortalitatea prin cancer în 29 de țări (cu incidență foarte crescută sau cu incidență foarte redusă a bolii) și făcând corelarea cu dieta caracteristică acestor populații, a stabilit că o dietă „ideală protectoare” ar trebui să conțină (din totalul caloriiilor) 74,6% glucide, 13,3% proteine și 12,1% grăsimi. Mortalitatea crescută ar fi în raport invers cu proporția existentă între caloriiile de origine glucidică și caloriiile de origine lipidică. Ideea regimurilor ideale nu s-a impus în practică.

Conținutul de fibre al alimentelor a fost de asemenea luat în discuție, considerându-se că existența fibrelor ar conferi o protecție contra cancerelor digestive, în special a celor recto-colice.

Originea vegetală sau animală a alimentelor a fost un alt obiectiv al cercetărilor epidemiologice. De exemplu, populațiile africane care consumă multe vegetale fac foarte rar cancer colo-rectale, în comparație cu populațiile nordice (anglo-saxone, germanice, etc.), care consumă foarte multă carne.

De asemenea, există numeroase plante, consumate ca alimente în diferite zone geografice, al căror efect este carcinogen, atunci când sînt consumate timp îndelungat (Lowenfels, 1977). De exemplu, există nuca unui palmier denumit Cycad Palin, care conține o substanță toxică ce induce la șobolani tumori gastrointestinale. S-a constatat că efectul cancerigen este potențat de anumiți microbi din flora intestinală. Localnicii care consumă această nuca,

au obiceiul să țină mult timp miezul în apă, fapt care ar dilua mult toxina cancerigenă.

Safrale este un component important al uleiului de *sas-safras*, dar se găsește și în alte condimente. Pînă de curînd această plantă a fost utilizată la prepararea berii (pentru a-i da aromă), dar după ce s-a descoperit că ingerearea prelungită a unei soluții de 0,5% poate induce tumori hepatice animalelor de experiență, a fost interzisă în industria berii (Lowenfels, 1977).

Bracken fern (un fel de ferigă) se consumă în multe părți ale lumii (SUA, Noua Zeelandă, Japonia) sub formă de salată făcută din frunzele tinere ale acestei plante. S-a constatat că vitele care consumă copios această plantă fac frecvent cancere vezicale și gastrointestinale. S-a extras din această plantă o substanță cancerigenă (acidul shikimic) și se presupune că acest acid poate fi eliminat și prin laptele vacilor, care consumă cantități mari de *bracken fern*.

Prezența unor substanțe cert cancerigene legate de modul de preparare și conservare a alimentelor (coloranți și conservanți alimentari, nitrozamine, pesticide și fungicide, aflatoxine, hidrocarburi cancerigene existente în fumurile utilizate la conservarea cărnurilor etc.).

Unii coloranți alimentari s-au dovedit a fi cancerigeni. Exemplul cel mai evident este interzicerea de către F.A.O. cu mulți ani în urmă a galbenului de unt (DAB, compus de diazobenzen) ca substanță colorantă alimentară.

Aflatoxina (B_1) este un hepato-cancerigen extrem de puternic; este frecvent întâlnită în alimentele contaminate cu ciuperca *Aspergillus flavus*. Puterea ei cancerigenă este amplificată de un regim carentat de proteine (situația triburilor Bantu din Africa, unde hepatomul este foarte frecvent întâlnit).

Nitrozaminele, substanțe cancerigene foarte puternice, evidențiate relativ recent de Magee (1956), pot fi găsite în mod natural în unele alimente (carnea de pește afumat, frunzele de spanac) sau în tutun, dar mai grav este faptul că pot fi sintetizate chiar în organism (prin reducerea nitraților în nitriți și combinarea acestora cu amine rezultate în cursul digestiei). Unele fermentații de bacterii pot grăbi formarea nitrozaminelor. Grav este faptul că nitriții sînt larg folosiți în industria cărnii (conservarea cărnii, prepararea mezelurilor). De altfel, în geneza cancerelor de esofag și stomac existența nitrozaminelor este luată serios în considerație. Din fericire, nitrozaminele au un antidot foarte puternic în vitamina C, existentă din abundență în dietele bine echilibrate.

Fumurile utilizate pentru conservarea cărnii sînt bogate în 3,4-benzpiren, substanță puternic cancerigenă. Și în fumul țigărilor se constată o concentrație mare de 3,4-benzpiren.

Dulciurile artificiale (ciclamații), folosite la prepararea băuturilor răcoitoare hipocalorice pentru reducerea consumului de zahăr, au fost implicate în geneza cancerelor vezicale. În SUA, unde consumarea lor era foarte largă, începînd din 1969 a fost interzisă utilizarea acestor substanțe. În prezent se fac cercetări dacă zaharina nu ar avea efecte cancerigene; pînă în prezent ipoteza nu este confirmată, încît utilizarea zaharinei este permisă.

Cititorului i se atrage insistent atenția că la ora actuală nu se poate afirma cu siguranță că substanțele chimice cancerigene conținute în alimente (de altfel în cantități foarte mici), pot induce cert carcinogeneza la om, așa cum o induce în condiții experimentale la animale, unde utilizăm concentrații mari.

Din aceste substanțe chimice, numai asupra aflatoxinei există certitudinea că induce cancere hepatice la om. Asupra acțiunii celorlalte pot fi formulate supoziții plauzibile, avînd în vedere efectul cancerigen al acestor substanțe la animale.

— Consumul de carcinogeni naturali (existenți în însăși compoziția chimică a unor alimente).

— Carența alimentelor privind unele elemente chimice (oligoelemente, vitamine, proteine etc.).

— La toate acestea se adaugă efectul nociv al altor obiceiuri: consumul de alcool și fumatul.

După acest scurt inventar, afirmația lui Lowenfels (1977) că toți ingredientii necesari pentru producerea unor carcinogeni sînt existenți în dieta noastră, nu pare deloc exagerată.

Important este faptul că acești cancerigeni devin periculoși cînd sînt consumați timp îndelungat (ani în șir), în cantități mari și cînd se suprapun unei structuri genetice favorabilă cancerogenezei.

În alimente există și substanțe cu rol puternic anticanceros sau cu efect neutralizant al substanțelor cancerigene ingerate. Vitaminele (vitamina C existentă în legume și fructe și alte vegetale) și substanțele antioxidante ajută sistemele oxidative microzomale la detoxifierea unor cancerigeni. De exemplu seleniul, găsit în alimente, este un puternic antioxidant, dar efectul lui protector în cancerogeneză nu a putut fi clar demonstrat.

Interesant este faptul că spanacul, bogat în nitrozamine conține în cantitate mare și antidotul acestora, vitamina C. Referitor la rolul protector al vitaminei A, dovedit experimental pentru unele cancere, Lowenfels (1977) a constatat că populații numeroase de pe glob se află în carență de vitamina A.

Vitamina B₂ (riboflavina), care experimental s-a dovedit a fi un protector contra carcinogenilor chimici, pare să joace același rol protector și în clinica umană. Dacă riboflavina se poate identifica eliminată în urina subiecților fără cancer, ea nu mai este găsită în urina canceroșilor (în proporție de 80% din cazuri): chiar dacă acestor bolnavi li s-a administrat riboflavină, nu s-a reușit să se identifice această substanță în urină.

Aceste experiențe (relatate de Lowenfels, 1977) trebuie confirmate și de alți cercetători, după cum trebuie clarificate aspecte ca: turnoverul riboflavinei la normali și canceroși, modul de utilizare a riboflavinei de către țesuturile canceroase etc.

În concluzie, rolul jucat de alimentație în geneza cancerului este demonstrat atît experimental, cît și prin studiile epidemiologice, clinice și de laborator. Sînt încă numeroase aspecte neelucidate, dar premisele de inițiere a unor studii rodnice în rezultate sînt deja bine fundamentate.

În prezent există date suficiente pentru a constata existența unei legături strînse între modul de alimentație și geneza unor cancere, cum ar fi cancerul esofagiene, gastrice, hepatice, recto-colice, cancerul de endometru și de sîn.

Vom prezenta în continuare datele epidemiologice asupra relației dintre alimentație și cancerul localizărilor menționate.

17.2.1.

Alimentația și cancerul esofagian

Cancerul de esofag este întâlnit cu o frecvență crescută în anumite zone din Iran, în Turcmenia (52/100 000) și Kazahstan (35/100 000) (republici din URSS) și în China centrală și de nord.

Cea mai mare frecvență este întâlnită (165/100 000 la bărbați și 195/100 000 la femei) la populații din jurul Mării Caspice (Iran și U.R.S.S.).

Uneori, cancerul de esofag este precedat de sindromul Plummer-Vinson, caracterizat printr-o disfagie numită sideropenică, deoarece se asociază cu o anemie hipocromă de origine probabil alimentară (Tuyns, Pequinet, 1978).

Studii efectuate pe cancerele de esofag din Africa de Sud constată o lipsă de molibden în apă și alimentele cultivate (Burrel, citat de Tuyns, 1978). Observația nu a fost confirmată de alți cercetători.

O altă ipoteză este consumarea de băuturi bogate în tanin (ceaiuri băute de localnicii din Insula Curaçao sau taninurile din unele vinuri din Franța).

Și hidrocarburile cancerigene (benzpiren, dibenzantracen, 3-metil-colantren ș.a.) din cărnurile afumate au fost acuzate. Interesantă este experiența lui Kurat Sune (1965, 1971), care a putut demonstra că aceste hidrocarburi nu pătrund în mucoasa esofagiană decât dacă sînt dizolvate în alcool (și nu în apă). Relația alcool-hidrocarburi cancerigene — fumat și cancerul esofagian este viu dezbătută azi (Tuyns, 1978).

Nitrozaminele au putut induce cancere esofagiene la șobolan (citată de Tuyns). Nitrozaminele au putut fi găsite în concentrații foarte mici în unele băuturi tari consumate în Franța (Tuyns).

Alcoolul în sine nu este cancerigen, dar poate vehicula în profunzimea mucoaselor unele substanțe cancerigene din tutun și alimente.

Anchetele întreprinse de OMS în Iran (regiunea Gonbad), unde incidența cancerelor esofagiene este foarte mare, nu au pus în evidență concentrații mai mari de substanțe cancerigene în alimentele consumate de localnici în comparație cu regiunile din Iran unde cancerul esofagian este rar întâlnit. Au fost incriminate monotonia și sărăcia alimentară din regiunea Gonbad (carență proteică și vitaminică).

Studiile epidemiologice efectuate în Franța (în regiunea Ille-et-Vilaine) întreprinse de Schwartz (1962) și de Tuyns ș.a. (1977), fără să evidențieze aspectele înregistrate în Iran, constată în schimb un consum mai mare de alcool și tutun la bolnavii de cancer esofagian. Concluziile definitive în relația alimentație-cancer esofagian nu sînt încă definitiv trase, fiind suspectați factorii alimentari menționați în această expunere.

17.2.2.

Cancerul gastric și alimentația

În etiologia acestei localizări sînt individualizați numeroși factori din care cităm: structura genetică a populației, ereditatea încărcată (constată la circa 25% din cazuri), vîrsta, anumite boli predispozante (anemia pernicioasă, polipii gastrici etc.). Modul de alimentație contribuie și el la apariția acestei localizări.

Supoziția este întărită de observații epidemiologice interesante ca:

— în Japonia, țară cu o alimentație specifică, frecvența cancerului gastric este foarte crescută;

— în SUA se constată în ultimii 20—30 de ani o scădere impresionantă a frecvenței cancerului gastric (fig. 17.1). Se presupune că modificarea alimentației ar juca rolul cel mai important la o populație care și-a păstrat structura genetică. Introducerea conservării alimentelor prin frig, înlocuindu-se astfel conservanții chimici sau afumarea cărnurilor, modificarea regimului alimentației prin îmbogățirea lui cu legume și produse lactate, fapt care a determinat diminuarea alimentației carnată, modificarea modului de preparare a alimentelor (fierte în loc de prăjite) etc., par să explice acest fapt neîndoiebnic, diminuarea incidenței cancerului gastric.

Fapte de observație de acest fel au determinat studierea îndeaproape a legăturilor care ar putea exista între diferiți factori de mediu, modul de alimentare și geneza cancerului gastric.

Întocmind în 1977 un studiu asupra acestei probleme (factori de mediu, alimentație și cancer gastric) în colaborare cu Livia Voicu, am putut revedea întreaga literatură asupra acestor relații, concluzia acestor studii fiind demonstrarea existenței unei legături între modul de alimentație și geneza cancerului gastric.

a) Foarte multe cercetări epidemiologice susțin că ar exista o strânsă legătură între structura solului și apariția cancerului gastric. De exemplu, se presupune (Haviland ș.a.) că solul argilos sau bogat în turbă favorizează apariția cancerului gastric, în timp ce solul calcaros ar reduce incidența (cercetări efectuate în Anglia, Norvegia și Ungaria).

Altă ipoteză este că unele oligoelemente din sol ar favoriza sau inhiba apariția cancerului gastric. Se afirmă că solul bogat în cobalt, nichel, zinc și fier ar favoriza apariția cancerului gastric, în timp ce magneziul ar inhiba geneza cancerului gastric. Cercetări efectuate în Armenia sovietică subliniază aceste date.

O altă afirmație este că populațiile care trăiesc la altitudine mare sînt mai predispuse la cancer decît cele de la șes (studii efectuate în Slovenia, Anglia și unele state din America de Sud).

Alți autori (de exemplu Saxon Graham) au arătat că muncitorii din minele de azbest fac mai frecvent cancer gastric.

În Japonia au fost găsite în orezul foarte polizat (datorită procedeelelor de preparare) fibre de azbest și se crede că acest fapt a jucat un rol în incidența mare a cancerului gastric în această țară consumatoare de orez (Lowenfels și Mary Anderson, 1977).

Nici una din aceste date nu sînt considerate ca definitive, studiul relației sol-cancer gastric continuînd: subliniem originalitatea și importanța studiilor asupra acestei relații efectuate în țara noastră (depresiunea Ciuc) de colectivul condus de profesorul Malnasi de la Tg. Mureș.

b) O altă linie de cercetări caută să stabilească legătura dintre substanțele cancerigene posibil existente în alimentele ingerate și apariția cancerului gastric.

Se presupune că alimentația cu pește și cărnuri afumate ar predispune la cancer gastric (Segi). Numeroase studii arată că în fumul la care se afumă cărnurile există numeroase hidrocarburi cancerigene.

Au mai fost suspectate alimente ca varza și merele consumate în exces în unele state nordice (Haensel). Studiind alimentația unui lot mare de canceroși gastrici, Graham arată că aceștia au consumat zilnic varză. Alții acuză consumul mare de cartofi, pâine și orez.

Alimentația dezordonată*, consumul unor băuturi alcoolice tari au fost pe rînd incriminate.

În Japonia, cancerul gastric apare frecvent la populația cu alimentație carentată și monotona: pește afumat, orez și multe conserve. La populația japoneză emigrată în America și care și-a schimbat modul de alimentație, însușindu-și modul de alimentație american, se constată o scădere a incidenței cancerului gastric.

Studii efectuate în Austria și Ungaria arată că frecvența cancerului gastric este mai mare în mediul rural decît în cel urban. La sate se consumă mari cantități de afumături, grăsimi prăjite, cartofi și țuică; nu se consumă legume în cantități suficiente. Există statistici mari în diferite țări, care confirmă că în mediul rural incidența cancerului gastric este cu mult mai mare decît în mediul urban, cauza fiind alimentația nerațională. De exemplu, în Islanda (1931—1960) mortalitatea prin cancer gastric a fost în mediul rural de 113/100 000 față de 85/100 000 la populația urbană. Existența acestor statistici a determinat guvernul Islandei să ia măsuri de ameliorare a alimentației la sate, aprovizionîndu-se piața cu legume, fructe, produse lactate și interzicîndu-se vînzarea de carne afumată.

Faptul că în SUA a scăzut izbitor mortalitatea prin cancer gastric în ultimii 30 de ani, a determinat pe epidemiologi să studieze modificările survenite în regimurile alimentare. În trecut erau consumate în mari cantități carnea de porc afumată, grăsimile prăjite și neprăjite în ulei, sau conserve la care conservantul era de natură chimică; în prezent alimentația s-a modificat esențial, există un plus de produse lactate, consum mare de vegetale verzi și fructe sau citrice, alimentele sînt conservate prin frig sau vid, cărnurile grase, afumate și prăjite sînt consumate mai puțin, crescînd consumul de carne slabă de vită preparată prin fierbere și păstrată la frig etc.

În prezent se consumă în America și Japonia de 20 de ori mai multe produse lactate decît în trecut, ouă de 13 ori mai mult, ulei de 10 ori mai mult (înlocuindu-se grăsimile animale prăjite), fructe de 3,7 ori mai mult, iar carnea se consumă de 3,7 ori mai mult (calculul este făcut respectîndu-se proporția populației).

Se consideră că un consum crescut de lapte pe zi conferă o protecție contra cancerului gastric (de exemplu Takeshi Hirayama, studiind 265118 de subiecți, constată că riscul este mai crescut la cei care nu beau lapte); la populația care a făcut rar cancer gastric se constată că indivizii au băut două sau mai multe căni de lapte pe zi.

c) O altă linie de cercetări caută să stabilească relația dintre modul de preparare a alimentelor și cancerul gastric.

* Într-un studiu făcut în colaborare cu Conf. V. Comes asupra epidemiologiei, cancerului gastric în 6 județe din nord-vestul Transilvaniei, am constatat că la periferia orașelor mari (Oradea, Cluj, Baia Mare, Satu Mare, Bistrița) cancerul gastric este mai frecvent decît în oraș. Explicația noastră a fost că la periferie există o populație cu o alimentație nerațională și dezordonată, datorită faptului că este angajată în muncă cu programe neregulate (zidari, meseriași zilieri etc.).

Grăsimile prăjite și reutilizate pentru prăjiri succesive sînt des întîlnite în alimentația canceroșilor gastrici.

Unii autori fac o legătură între temperatura înaltă de prăjire a grăsimilor (posibila apariție de substanțe cancerigene prin degradarea grăsimilor) și apariția cancerului gastric. Unii recomandă ca pregătirea alimentelor să nu se facă la temperaturi prea înalte și nici să nu fie prelungită perioada de fierbere sau de prăjire.

d) Alte cercetări adîncesc relația dintre modul de păstrare și conservare a alimentelor și geneza cancerului gastric.

Există opinii foarte „curioase”; de exemplu Weisburger și Raineri consideră că păstrarea alimentelor mai mult de 24 de ore la temperatura camerei le crește influența cancerigenă gastrică. Mai curioasă ni se pare concluzia acestor autori ca apa de băut să nu fie păstrată la temperatura camerei în timpul nopții (!)

Se recomandă păstrarea alimentelor la frig (frigidere) și nu la temperatura camerei (18—20°C).

Interesantă este ideea că în stomac unele alimente se pot transforma în nitrozamine, substanțe puternic cancerigene.

Nitriții pot proveni din nitrații existenți în mod natural în unele alimente sau din nitriții utilizați pentru conservarea cărnurilor. De asemenea, apa de băut provenită din soluri nitate poate să conțină nitrați și nitriți.

Transformarea nitraților în nitriți are loc la temperaturi mai ridicate (20—30°C) și este împiedicată la 2—4°C. De aceea, conservarea alimentelor la temperatura camerei este riscantă (crește cantitatea de nitriți proveniți din nitrați), în timp ce conservarea la frigider este recomandată (deoarece este împiedicată transformarea nitraților în nitriți).

De asemenea, există bacterii care pot transforma nitrații în nitriți. Există cercetări care arată că nitrații din alimentele păstrate în cameră (18—20°C), sub influența temperaturii și a dezvoltării germenilor își modifică în proporție de 90% nitrații în nitriți. În cartofi, care conțin cantități apreciabile de nitrați, aceștia se transformă în nitriți în proporție de 63% dacă mîncarea de cartofi este păstrată 48 de ore la 37°C. Dacă mîncarea de cartofi este menținută la frigider (2°C), după 72 de ore nu se constată nici o transformare a nitraților în nitriți. Și aceste experiențe pledează pentru conservarea alimentelor prin frig.

S-a dovedit experimental că în stomac există toate condițiile (temperatură, pH) ca nitrații să se transforme în nitriți, care împreună cu aminele alimentare pot forma nitrozamine, substanțe puternic cancerigene. Fenomenul este facilitat de staza gastrică.

Se știe că nitriții sînt precursorii nitrozaminelor. În afară de posibila lor formare din nitrați, datorită factorilor descriși (temperatura favorabilă și existența unor germeni microbieni), nitriții mai pot fi găsiți în alimente, fiind folosiți ca substanțe conservante ale cărnii și pentru păstrarea culorii roșii (împiedică transformarea hemoglobinei în methemoglobină). Împiedicînd dezvoltarea germenului *Clostridium botulinicum*, nitrații sînt larg utilizați în conservarea cărnii și mezelurilor.

Walker susține că nitrații din apă și alimente pot fi transformați în nitriți nu numai sub acțiunea unor bacterii, ci și sub acțiunea unor enzime.

Experimental s-a dovedit că transformarea nitraților în nitriți este blocată (inhibată) în prezența vitaminei C (acidul ascorbic) în cantități mari

(Mirvish și colab.). Acești autori au arătat că acidul ascorbic împiedică reacția de nitrozare (transformarea aminelor în nitrozamine) și nitrozarea metilureei.

Experiența lor a constatat în urmărirea acestor transformări în piureul de cartofi, care conținea 100 ppm (părți pe milion) nitrit și 100 ppm metiluree, menținut în incubator la 37°C în mediu acid (pH 1,2). După 10 minute componenții chimici menționați s-au transformat în 19,2 ppm H, metil-N-nitrozouree (substanță puternic cancerigenă). În alt eșantion de piureu de cartofi, cu aceleași cantități de metiluree și nitrit, la care s-a adăugat o vitamină C în cantități de 1,2-4 ppm, s-a constatat o inhibare a formării de N-nitrozouree de 37% la 24 de ore, 74% la 48 de ore și 93% după 72 de ore. Se presupune că o sursă de nitriți o constituie și compuși nitroguanidini abundenți în diferite alimente sau metilguanidina, care se găsește în proporții mari (100—900 ppm) în carnea de vită și pește. Deoarece rolul nitriților alimentari în procesul de cancerizare este foarte probabil, în USA s-au luat măsuri de reducere a utilizării lor în conservarea cărnurilor, peștelui și prepararea mezelurilor.

Epidemiologii au analizat și alte aspecte ale modului de alimentare și geneza cancerului gastric. De exemplu, Wynder ia în considerare viteza de masticare, starea dentiției, (microbismul cariilor dentare care facilitează transformarea nitratului în nitrit), hipotonia și hipoaciditatea gastrică.

Concluzia acestor studii este că o masticare insuficientă (netriturarea corectă a alimentelor), microbismul cariilor dentare, timpul scurt al meselor, neregularitatea lor, atonia, hipoaciditatea și staza gastrică sînt factori foarte frecvent întîlniți la bolnavii purtători de cancer gastric.

Există mulți autori (de exemplu Takeshi Hirayama) care acuză alcoolul și tutunul că ar juca un rol în geneza cancerului gastric. În fumul de țigară s-a evidențiat prezența ionului sulfocianic, un catalizator puternic al reacției de nitrozare (adică reacția dintre nitrit și amine sau amide).

În Franța riscul de a face un cancer gastric este de 25 de ori mai crescut la băutorii de băuturi tari și de 2,5 ori mai mare la băutorii de bere, decît la nebăutori.

Problema a fost mai pe larg dezbătută în capitolul „Alcoolul și cancerul”.

Nu putem încheia acest capitol fără a menționa unele studii (neconfirmate de numeroși alți cercetători) care indică o oarecare putere cancerigenă unor medicamente larg uzitate ca: zaharina, piramidonul, fenobarbitalul ș.a.

Concluzii asupra rolului alimentației în geneza cancerului gastric. Cititorul datelor expuse rămîne desigur impresionat de diversitatea unghiurilor din care a fost privită relația cancer gastric-alimentație: rolul unor poluanți alimentari, rolul modului de preparare a alimentelor etc.

Nu toate supozițiile prezentate au fost și confirmate. Multe din afirmațiile publicate sînt simple puncte de vedere (nocivitatea consumului de bere), uneori fanteziste, justificate însă într-o boală atît de gravă cum este cancerul gastric, a cărei etiologie rămîne încă necunoscută.

Fără să se poată trage o concluzie fermă, rămîne indiscutabil faptul că în geneza cancerului gastric factorii alimentari joacă un rol important chiar dacă nu pot fi exact precizați. Ipoteza rolului cancerigen al nitriților transformați în nitrozamine trebuie luată serios în considerație.

Experiența americană, care arată o scădere indiscutabilă în ultimii 30 de ani a cancerului gastric, demonstrează indirect rolul modificărilor regimului alimentar și importanța modului de conservare și preparare a alimentelor în geneza cancerului gastric.

17.2.3.

Cancerul colo-rectal și alimentația

Studii epidemiologice (Wynder, 1974; Higginson, Shigematsu, Saxon-Graham, 1978 ș.a.) demonstrează că există o repartitie geografică foarte variată a cancerului colo-rectal și că relația cu modul de alimentație poate fi relativ ușor intuită.

De exemplu, în Africa este foarte rar întâlnit cancerul recto-colic, în timp ce în America de Nord, Anglia și nordul Europei este foarte frecvent.

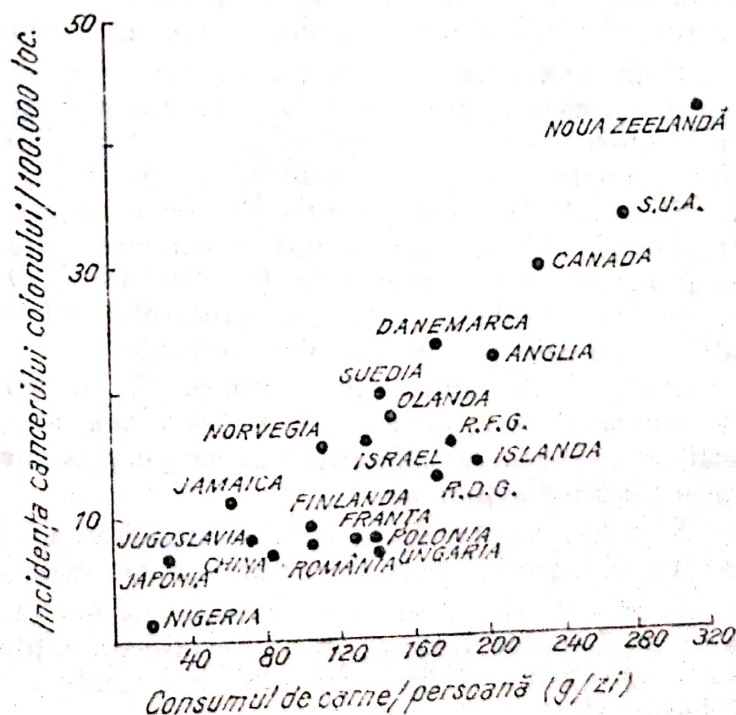
Relația alimentație și cancer colo-rectal a fost corelată cu faptul că africanii care fac rar cancer colo-rectal consumă mai multe vegetale și mai puțină carne și grăsimi, în timp ce lumea anglo-saxonă și nord-europeană face frecvent cancer colo-rectal, consumă multă carne (foarte diferit preparată: carne proaspătă și conservată în moduri foarte diferite) și grăsimi, și mai puțin vegetale.

Unii autori caută să diferențieze epidemiologia cancerelor colice de cele rectale. Alții au o concepție unitară.

Se pot contura două mari curente în cea ce privește tematica de cercetare epidemiologică a cancerelor colo-rectale:

— ideea că abuzul de carne și grăsimi ar fi un factor favorizant;

Fig. 17.2. — Corelația dintre consumul de carne în diferite țări și riscul de apariție a cancerului colonului. (The Times Health, s. 6.11.81).



— ideea că fibrele din alimentația cu vegetale ar conferi un grad de protecție recto-colonului.

Desigur că factorul genetic nu poate fi exclus. Se cunosc familii cu o incidență crescută a cancerelor recto-colice, urmărită în generații succesive

(fără să existe semne evidente de polipoză recto-colică, entitate cunoscută ca ereditară și cu procent mare de cancerizare).

Am avut în tratament o familie în care tatăl și doi fii au sucombat prin cancer colic.

S-a discutat dacă nu cumva și industrializarea cu stresurile ei ar fi un factor predispozant, dar studiile epidemiologice au infirmat total această ipoteză. De exemplu, Lanier (1973) a efectuat un studiu asupra incidenței cancerului rectocolic în două țări foarte industrializate (USA și Japonia), dar cu regimuri alimentare foarte diferite. În districtul Myagi din Japonia, incidența cancerului colo-rectal a fost de 4 la 10000 locuitori (1962—1964), în timp ce în Statul Nebraska din SUA (în 1964) s-a înregistrat o incidență de 11 ori mai mare (44,7 la 10000 locuitori).

Deci, nu industrializarea joacă vreun rol, ci mai degrabă alimentația total diferită la aceste populații.

În ceea ce privește factorul genetic predispozant, nici acesta nu se dovedește prea implicat, deoarece studiul asupra populațiilor migrate demonstrează tot superioritatea factorului alimentar (de exemplu, negrii din California au o incidență mult mai crescută a cancerului colo-rectal decât negrii din Nigeria, țara din care au venit în America. Comentînd acest fapt într-un raport al UICC asupra acestei probleme publicat în 1975, MacLenan subliniază că la structuri genetice egale incidența cancerului colo-rectal crește în funcție de schimbarea modului de alimentație. Silverberg și Holeb (1978) înregistrează același fenomen la emigranții japonezi din SUA.

Concluzia tuturor acestor studii epidemiologice (Wynder, 1974) subliniază importanța deosebită pe care o au factorii de mediu (regimul alimentar) din timpul vieții adulte în etiologia cancerului colo-rectal.

Cum intervine alimentația ca factor etiologic în cancerul colo-rectal a fost întrebarea următoare la care au încercat să răspundă epidemiologii. Unii autori susțin că există un raport strîns între consumul crescut de proteine animale și geneza cancerului recto-colic. În acest sens, raportul tehnic al UICC (1975) asupra acestei probleme citează pe larg studiile lui Gregor efectuate în 1973, care făcînd o corelare între frecvența cancerului colo-rectal în 28 de țări (perioada 1947—1948 și 1962—1963) și modul de alimentație, conchide că incidența cancerului colo-rectal este direct proporțională cu consumul de proteine animale.

Studiind alimentația din aproape 40 de țări (printre care și România), alți autori (Irwing și Draser, 1973) ajung la concluzia că pe lîngă rolul jucat de creșterea alimentației bazată pe proteine animale, un rol important îl joacă grăsimile animale.

Wynder, în 1974, subliniază legătura dintre regimul alimentar bazat pe cărnuri și grăsimi animale și geneza cancerelor colo-rectale.

Problema ajunsă în acest stadiu, studiile au alunecat ușor spre analiza modului de influențare a acestui regim hiperlipido-proteic carnat asupra modificărilor induse chimului intestinal și mai ales asupra florei microbiene colice.

Studiind, de exemplu, flora microbiană colică, Aries V. (1969) arată că subiecții care consumă grăsimi și proteine animale au în fecalele lor mai mulți microbi enterali de tip *Bacteroides*, *Clostridium paraputrificum* și bifido-bacterii, în timp ce la subiecții care consumă o alimentație vegetariană,

predomină strepto- și enterococii. Hill și Draser (1975, 1978) au calculat acest microbism oarecum specific cancerelor colo-rectale. Într-un gram de fecale recoltate de la subiecții care trăiesc în regiuni cu incidență crescută a cancerelor colo-rectale, s-au găsit aproximativ 5×10^9 bacterii, în timp ce la subiecții din regiuni cu incidență redusă a cancerelor colo-rectale, cantitatea acestor microbi a fost doar de 5×10^7 . Odată stabilit că flora microbiană enterală diferă total în funcție de regimul alimentar, epidemiologii au trecut la investigații referitoare la efectul acestor germeni asupra grăsimilor, acizilor biliari și proteinelor, ajungând la concluzia uluitoare că în intestinul acestor subiecți pot apărea în unele condiții substanțe chimice cocancerigene sau chiar cancerigene. Vechea concepție a lui Butenandt (premiul Nobel — 1939 — pentru sinteza unor hormoni sexuali), care susținea că datorită vicierei metabolismului unor substanțe steroidice din organism s-ar putea naște în organism substanțe cancerigene („teoria substanțelor cancerigene de natură endogenă”), teorie care nu a prins la vremea ei din lipsă de dovezi, pare să-și găsească oarecare sprijin în cercetările întreprinse asupra modificărilor chimismului enteral sub influența lipidelor și proteinelor animale ingerate în exces, a excesului de acizi biliari eliminați prin bilă și a acțiunii florei microbiene colice specifice acestui tip de alimentație asupra conținutului intestinal.

Vom expune succint unele din aceste studii. Este știut că o alimentație bogată în grăsimi induce creșterea acizilor biliari și derivaților lor în lumenul colic.

Hill (1978) stabilește că la subiecții canceroși colorectali 82% din cazuri prezentau un exces important de acizi biliari în fecale, în comparație cu subiecții normali, la care se înregistrează un exces limitat de acizi biliari într-o proporție doar de 17%.

Deci canceroșii colo-rectali au o compoziție chimică diferită a fecalelor.

Unele cercetări (Nurishawa, 1975 — citat în Raportul tehnic al UICC) arată că acizii biliari pot fi factori cocancerigeni, deoarece acizii tauro-dezoxicolic și lito-colic au o acțiune de activatori ai tumorilor colice la șobolani.

S-a ajuns la cercetări chimice foarte subtile; așa spre exemplu, în Laboratoarele Serviciului de sănătate publică din Londra (Serv. Publ. Health) Williams (1974) semnalează faptul că microbi enterali de tipul *Bacteroides* facilitează procesele de deconjugare a bilei.

Intrând în joc și un virus coliform, se favorizează dehidroxilarea nucleului chimic al acizilor biliari. În această fază, *Clostridium paraputrificum*, existent din abundență în flora colică a subiecților care consumă excesiv lipide și proteine animale, ar facilita prin dehidrogenarea substratului, apariția unor substanțe cocancerigene sau chiar cancerigene. S-a ajuns atât de departe, încât Hill (1978) consideră că în laboratorul colic al acestor subiecți ar putea apărea chiar metil-colantrenul, substanță unanim recunoscută ca având o acțiune puternic cancerigenă.

Cercetări interesante s-au făcut asupra rolului microbului *Clostridium paraputrificum*, găsit în fecale de Hill și Dresser (citat în Raportul tehnic al UICC, 1975) în 82% din cazurile cu neoplazie colo-rectală, în timp ce la subiecții necanceroși microbul se găsește numai în 43%.

Acest germen ar avea o putere mare de dehidroxilare a acizilor biliari. Tot Hill și colab. (1978) au studiat indicele de dehidroxilare a acizilor biliari în fecalele eliminate cu ocazia unui tranzit colic la diferite populații, care au incidențe foarte diferite ale cancerelor colo-rectale.

Populația	Indicele de dehidroxilare	Frecvența cancerului colo-rectal
Scotieni	9,8	Mare
Englezi	6,4	
Americani (SUA)	4,6	
Ugandezi	1,5	Redusă
Japonezi	0,5	

Reddy (citată în Raportul tehnic al UICC din 1975) arată că se poate obține o scădere semnificativă a cantității acizilor biliari din fecale dacă se reduce sub 30 g cantitatea de grăsimi animale ingerate zilnic.

Tot Reddy recomandă ca prin dozarea în fecale a 7-alfa-dehidroxilazei, enzimă care intervine activ în transformarea posibilă a acizilor biliari prin dehidroxilare, s-ar putea obține indicatori oarecum preciși asupra substanțelor cocancerigene eliberate în lumenul colic.

Tot legat de metabolismul acizilor colici s-a căutat să se vadă dacă nu există vreo legătură între colesterolul din sânge și cancerul colo-rectal. Rose (1974), care presupunea că bolnavii cu hipercolesterolemie ar fi expuși la un risc crescut de apariție a cancerului colo-rectal nu a putut să-și confirme ipoteza, deoarece 63% din subiecții cu cancer colo-rectal aveau valori subnormale ale colesterolemiei. S-a interpretat fenomenul ca fiind rezultatul unei degradări crescute a acizilor biliari în lumenul colic, fapt care ar împiedica reciclarea și participarea lor la formarea colesterolului sangvin.

Există unii autori (Hill, 1974) care susțin că o alimentație hipercarnată ar favoriza apariția unor substanțe cocancerigene și cancerigene endocolice, prin faptul că flora bacteriană colică ar facilita degradarea metabolică a triptofanului în unele substanțe cancerigene. În ceea ce privește lizina și arginina, acestea s-ar degrada în amine ciclice, care sub acțiunea altor factori se transformă în nitrozamine.

Nu toți epidemiologii și biochimistii au aderat la acest punct de vedere.

În sfârșit, menționăm ipoteza lansată de Burkitt (1971) și susținută ulterior de Cleave (1974, citată în Raportul tehnic al UICC, din 1975), potrivit căreia fibrele celulozice din alimentația vegetariană ar conferi o protecție colonului contra factorilor cocancerigeni sau cancerigeni endocolici. Explicația ar fi faptul că se accelerează tranzitul colic, fenomen care ar împiedica transformarea totală a acizilor biliari și ar reduce timpul de contact al cocancerigenilor și cancerigenilor endocolici cu mucoasa colică. Această ipoteză este din ce în ce mai puțin sprijinită.

Mai există semnalate în literatură și alte cauze ale cancerelor recto-colice legate de alimentație. Unii discută posibilitatea infestării alimentelor consumate cu aflatoxine și hidrocarburi cancerigene existente în grăsimile și cărnurile conservate prin afumare.

Se pare că un abuz de cafea ar crește riscul pentru cancerizarea recto-colonului (Saxon-Graham, 1978). S-a mers mai departe, acuzându-se și starea de stres în care trăiesc unele populații din mediul urban, stres recunoscut că ar avea un rol în motilitatea intestinală și apariția unor microulceratii colice, care determină diferite forme de colită. Constipația cronică nu este un factor favorizant al cancerului colo-rectal. Femeile, care sînt frecvent constipate, au o incidență mai redusă a cancerului colo-rectal (Raport tehnic UICC, 1975).

Sînt numeroși autori (Beregen, 1969; Roth, 1964; — citați de Fodor, Stănescu și Dejica, 1979), care susțin că incidența cancerului colic este de 14—30 de ori mai mare la bolnavii cu recto-colită hemoragică. Polipoza inflamatorie (frecventă în colite), polipoza adenomatoasă, polipii solitari se pot maligniza în procente mai mari decît mucoasa colică normală.

Ca și în domeniul cancerului gastric, și în cancerul colo-rectal relația alimentație-cancer s-a dovedit a fi importantă, fără să se poată preciza cu certitudine elementul declanșator al oncogenezei.

Cel mai puternic argument în favoarea rolului cancerigen jucat de regimul alimentar este observația epidemiologilor că populații largi din zone geografice cu incidență scăzută a acestor cancere, emigrată în țări cu incidență crescută a acestei boli și care au adoptat regimul alimentar al țărilor de imigrare, încep să facă din ce în ce mai mult cancere colo-rectale (exemplul africanilor și japonezilor imigrați în SUA).

Dieta „regiunilor din vest”, bogată în grăsimi animale, hiperproteică (proteine din cărnuri), săracă în fibre, ar modifica flora microbiană colică, permițînd geneza unor cancerigeni din metabolizarea viciată a unor acizi biliari. La acești „cancerigeni endogeni” se adaugă și „cancerigenii exogeni” introduși în organism o dată cu dieta (benzpiren, nitrozamine, aflatoxine ș.a.).

17.2.4.

Cancerul hepatic

Am menționat în acest capitol rolul aflatoxinei B₁, al carenței proteice, vitaminice (vitamina B₂ — riboflavina) și al lipsei antioxidanților din alimentație în geneza hepatoamelor maligne. Nu mai revenim asupra acestor date.

17.2.5.

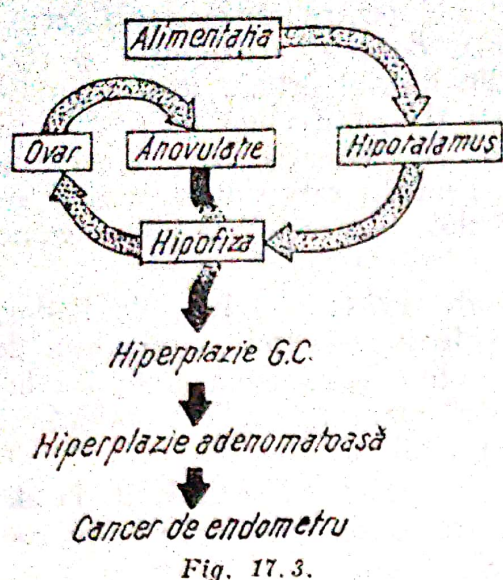
Alimentația și cancerul de endometru

Cancerul de endometru este caracterizat prin:

— apariția mai frecventă în postmenopauză, la femei cu antecedente de hiperfoliculinie (nulpire prin sterilitate de cauză anovulatorie sau prin menopauză tardivă);

— apariția mai frecventă la femeile cu triada patologică: obezitate, hipertensiune arterială și diabet zaharat.

Punînd în centrul acestor considerații obezitatea, adică o stare de nutriție caracteristică, legată evident de calitatea și cantitatea alimentației, au fost acumulate multiple dovezi atestînd incriminarea acestui factor în etiopatogenia cancerului de endometru. Puntea de legătură, releul dintre obezitate și



cancerul de endometru este reprezentat de hiperestrogenie sau, mai exact, hiperestronemie.

Implicațiile endocrine ale obezității, în sensul realizării unei hiperestrogenii, se pot rezuma la 2 aspecte:

(a) asocierea frecventă a obezității cu ciclurile anovulatorii, prin insuficiență luteală, realizează o hiperfoliculinie relativă, cu creșterea mai pronunțată a estronei;

(b) hormonii androgeni circulanți, de proveniență în primul rând din cortico-suprarenală, sînt metabolizați în estronă în țesutul adipos periferic, această metabolizare fiind direct corelată cu excesul ponderal.

17.2.5.1.

Obezitatea și ciclurile anovulatorii

Obezitatea este o boală endocrină-metabolică complexă în care, într-o primă etapă, prin absența descărcării ciclice a LH se anulează „valul” de estrogeni care declanșează ovulația și apar ciclurile anovulatorii și hiperestrogenie relativă (Georgian Mihaela, 1979).

Alte mecanisme care pot fi incriminate în apariția ciclurilor anovulatorii sînt:

— hipercortizolismul și hipotiroidia, prezente în obezitate, prin fenomene de comutare și antrenare pot determina inhibiția secreției de gonadotrofine, în speță a LH (Milcu și colab., 1964, citați de Mihaela Georgian);

— modificările endocrine-metabolice secundare acumulării de țesut adipos inițiază — ca orice stres metabolic — sacrificarea secreției de GTH (Sdrobici, 1971; cit. de Mihaela Georgian).

În favoarea considerării ciclurilor anovulatorii ca un apanaj lezional al obezității vine și constatarea clinică potrivit căreia sterilitatea primară sau secundară a femeilor obeze s-a vindecat o dată cu revenirea la greutatea normală printr-un regim de slăbire bine condus (Cioltei Anca, 1979).

Influența alimentației asupra endometrului, avînd în centru apariția ciclurilor anovulatorii prin dereglarea releelor în axul hipotalamo-hipofizo-ovarian, este redată în fig. 17.3 (Gusberg, 1975).

17.2.5.2.

Convertirea periferică a androstendionei în estronă

Prin aromatizare în țesutul gras periferic, hormonii androgeni circulanți, se pot transforma în estrogeni, fapt evidențiat și *in vitro* (Nimrod A., Ryan K. J., 1975).

S-a demonstrat de asemenea că rata de conversie a androstendionei în estronă este mai mare la femeile obeze decît la cele neobeze (MacDonald, Siiteri, 1971; Edman și Mac Donald, 1976; Rizkallah și Tovell, 1975).

La femeile în postmenopauză, aproape întreaga cantitate de estrogeni endogeni este reprezentată de estronă, iar estronă este aproape în întregime de origine extraglandulară (Longcope, 1971).

Rata de formare extraglandulară a estronei este determinată de cantitatea de androstendion circulant și de amploarea aromatizării acestuia.

În ceea ce privește amploarea conversiei androstendionului în estronă, un studiu din 1978 (Edman și MacDonald) evidențiază clar importanța stării de nutriție. În acest studiu s-a urmărit rata de conversie a androstendionului în estronă la 21 de femei cu cicluri ovulatorii și 31 de femei cu cicluri anovulatorii, având o greutate corporală de la 41 la 159 kg și vârsta de la 13 la 40 de ani. S-a putut constata o corelație foarte semnificativă între rata de conversie și greutatea corporală. Rata de conversie a fost de 0,90% la 45 kg, 1,80% la 90 kg și 3,60% la 135 kg, dublându-se pentru fiecare creștere cu 45 kg în greutate (Edman, MacDonald, 1978).

Pentru a exclude posibilitatea influențării acestei rate de conversie de către starea histologică a endometrului (tumoral sau netumoral), aceiași autori (MacDonald și colab., 1978) au analizat rata de conversie a androstendionului în estronă la 25 de femei în postmenopauză, cu cancer de endometru, având greutatea corporală între 61 și 195 kg. Lotul de control a fost reprezentat de 25 de femei în postmenopauză, fără cancer de endometru, având greutatea corporală între 47 și 165 kg. Rata de conversie a fost asemănătoare la cele două loturi, fiind net corelată cu greutatea: 20% la 45 kg, 40% la 100 kg și 80% la 160 kg. Este evident faptul că rata de conversie se dublează la fiecare 60 kg exces ponderal, fiind în întregime legată de starea de nutriție (MacDonald, Edman, Hemsell, Porter, Siiteri, 1978).

În condiții de obezitate au fost constatate uneori niveluri crescute de androgeni (Hosseinian, 1976, citat de Mihaela Georgian). Această constatare completează explicația provenienței hiperestronemiei și prin creșterea sursei de androgeni, alături de conversia periferică crescută a acestora.

17.2.5.3.

Studii epidemiologice

a. În perioada 1950—1970, în timp ce rata de mortalitate prin cancer de endometru a rămas nemodificată la populația albă din SUA, ea a crescut semnificativ la populația neagră.

Această perioadă coincide cu migrarea în masă a negrilor din regiunile rurale din sud către orașele industrializate din nord, cu îmbogățirea netă a circumstanțelor economice și în primul rând a alimentației (National Cancer Institute, 1971, citat de Gusberg, 1975).

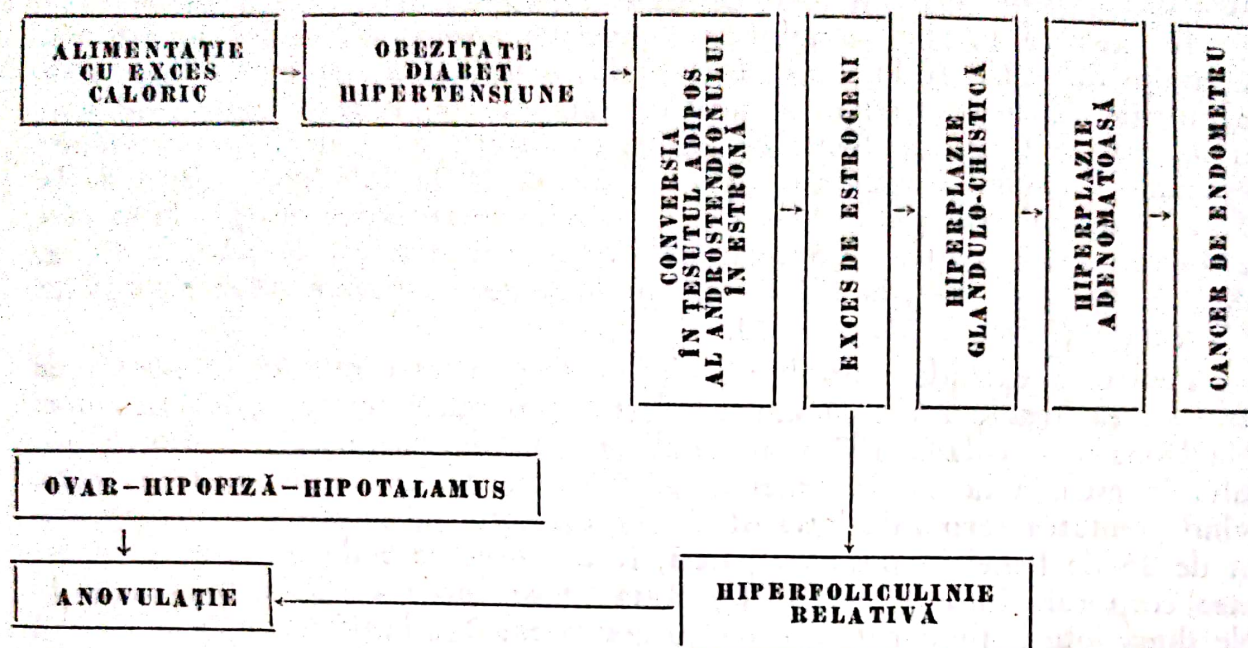
b. Masubuchi K. raportează o creștere a carcinomului de endometru și a diabetului în Tokio, de când japonezii au adoptat tipul de alimentație din Occident, bogat în proteine și grăsimi animale (citat de Gusberg, 1975).

c. Hirayama (citat de Gusberg): În Manilla (Filipine), oraș oriental cu mod de viață foarte occidental, riscul cancerului de sân și endometru este mult mai mare decât în alte orașe asiatice.

d. În Israel, cancerul de endometru este mult mai frecvent decât cel de col uterin, printre femeile de origine europeană, care au un mod de viață occidental, comparativ cu femeile de origine africană, unde prevalența canceru-

lui de corp și col uterin urmează modul „oriental” (Steinitz T., Costin C., 1971).

În concluzie, relația posibilă într-o alimentație bogată caloric, manifestată prin obezitate cu implicațiile endocrine ale acesteia, este schematizată astfel:



Se poate observa cum conversia periferică crescută a androstendionului în estronă, precum și inducerea ciclurilor anovulatorii determină prin excesul de estrogeni proliferarea mucoasei uterine pe o filiație care duce la cancer.

17.2.6.

Alimentația și cancerul mamar.

Altă localizare în care a fost întrevăzut rolul patogenetic al dietei. Ipotezele sînt extrem de contradictorii, nu sînt verificate decît pe unele animale (de obicei șoareci) și studiile epidemiologice umane întreprinse pînă în prezent nu au ajuns să clarifice patogenia.

Pentru informare, prezentăm ipotezele, experiențele pe animale și studiile epidemiologice umane, fără a putea trage nici o concluzie.

Timpul, prin verificarea unor afirmații, va preciza realitatea.

Există o literatură vastă pentru această problemă. Ne-au orientat în special studiile făcute de Monique Lé (1978) și excelenta revistă generală asupra problemei, realizată de Papaioannou A. B. (1974).

Este foarte greu de descifrat rolul alimentației într-o boală cu atît de multe necunoscute și unde se interferează factori ca: celibatul, absența sarcinilor, vîrsta înaintată la care a fost dusă la termen prima sarcină, dezechilibre endocrine, ablactarea, traumatismul, factorii ereditari.

Un fapt cert este că incidența cancerului mamar variază izbitor în funcție de zonele geografice, unde populațiile au diete foarte diferite.

De exemplu, japonezele fac cel mai puțin cancer mamar, în timp ce în Danemarca boala este extrem de frecventă (fig. 17.4) (Waard, reproducă de M. Lé, 1978).

Interesantă este observația (Wynder, 1968) că la japonezele imigrate în SUA, care și-au însușit „dieta de vest” (dieta americană), după mai multe generații începe să apară boala în procente crescute.

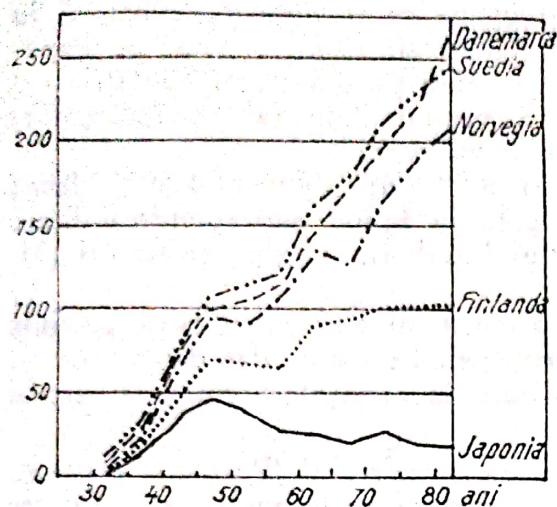


Fig. 17.4. — Mortalitatea prin cancer mamar în funcție de vîrstă în Japonia și 4 țări occidentale (F. de Waard).

S-a considerat că factorul care imprimă această diferență este dieta.

O experiență făcută de Sabine și colab., 1973, relatată de Papaioannou, 1974) pune sub semnul întrebării această ipoteză (rolul alimentației). Sabine a observat că la o rasă de șoareci la care 100% din animale dezvoltă cancer mamar (și hepatice) spre bătrînețe în SUA, nu se mai semnalează aproape de loc cancerul dacă animalele sînt transportate în Australia și sînt alimentate cu o hrană autohtonă similară cu cea din SUA. Dacă însă rumegușul de lemn (lemn de cedru) și alimentația sînt trimise din SUA, șoarecii emigrați expe-

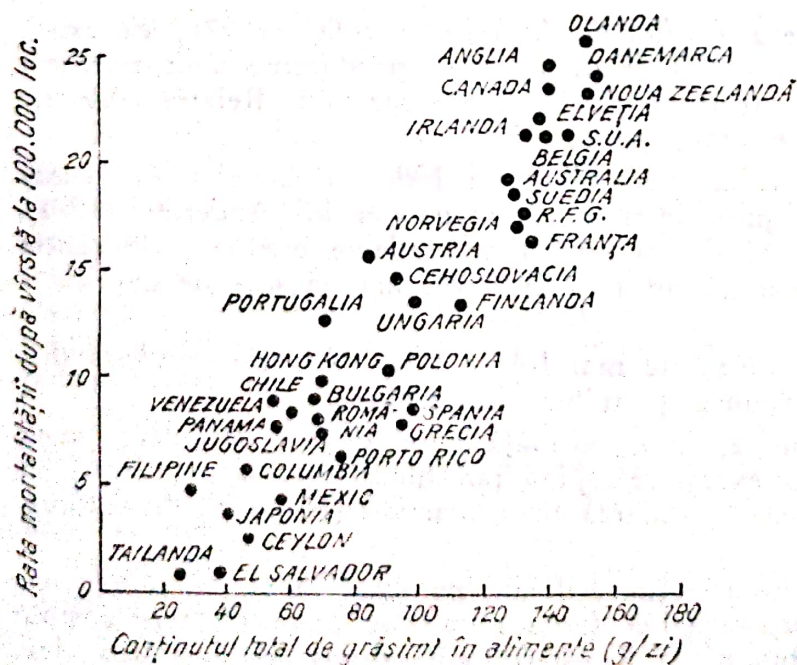


Fig. 17.5. — Corelația dintre consumul de grăsimi în diferite țări și riscul de deces prin cancerul sînului (The Times Health, s. 6.11.81)

rimental încep să facă neoplazia în procente observate la New York. Probabil că factorii cancerigeni (care nu au putut fi identificați încă) se află în rumegușul de lemn de cedru sau în alimentele similare aduse din SUA.

Unii autori germani și olandezi au afirmat că neoplazia mamară ar fi mai frecventă la femeile grase și cu talie înaltă (riscul ar fi de 4 ori mai mare). Cercetările făcute de M. Lé în Franța infirmă aceste date.

Experimental (pe șobolani) există argumente că o alimentație bogată în lipide crește incidența cancerelor mamare (Gammal, 1967 — citat de Papaioannou). Wynder (1968) citează unele experiențe pe șoareci alimentați cu o dietă săracă în lipide (similară oarecum cu regimul alimentar al japonezilor) care a dus la o scădere a incidenței cancerelor mamare.

Cu toate că numeroși epidemiologi (Lea, 1966; Wynder, 1968; Hems, 1970) constată această corelație (dietă bogată în lipide, supraponderabilitate — cancer mamar), ea este pusă sub semnul întrebării de alți cercetători (M. Lé, 1978).

S-au efectuat cercetări în ceea ce privește nivelul mobilizării acizilor grași liberi, cantitatea de colesterol, lipoproteinele-beta etc., dar deosebirile au fost interpretate ca fiind mai degrabă explicate de variațiile hormonale, stresul psihic, decât de prezența cancerului mamar.

S-a afirmat chiar că dieta care ar scădea colesterolul (Pearce și Dayton, 1971) ar favoriza apariția cancerului mamar, dar trialurile publicate de Ederer demonstrează exact contrariul (dieta hipocolesterolemiantă nu crește numărul deceselor prin cancer).

Toate aceste cercetări epidemiologice au defectul că studiază bolnavele cu neoplazie mamară constituită, când mai interesant ar fi să se fi studiat aceste aspecte cu 4—8 ani înainte, când boala era la debutul ei. Numai atunci s-ar fi putut afirma că aceste modificări ale lipidelor sînt echivalente cu factorii care generează cancerul (Papaioannou, 1974).

Deci rolul dietei hiperlipidice în geneza cancerului mamar nu este încă precizat.

Interesantă este ipoteza formulată de Hill și colab. (1971) că există tipuri de floră microbiană colică ce ar favoriza producerea unor estrogeni endocolici, care ar putea influența carcinogeneza mamară. Relația obezitate hiperestrogenie a fost dezvoltată pe larg.

În ceea ce privește rolul metabolismului hidrocarbonatelor în geneza cancerului mamar, ni se pare interesantă observația lui Andersen (1971), dedusă din studierea a 500 de cazuri cu antecedente ereditare de cancer mamar: situație care determină un risc de 5 ori mai crescut de apariție a neoplaziei mamare.

Pe acest lot au fost constatate mai frecvent la bolnavele în vîrstă diabetică, obezitatea, hipertensiunea și tulburările genitale.

Au mai fost incriminate, fără existența unor dovezi definitive, unele medicamente consumate în exces: rezerpina (antihipertensiv larg utilizat), ca și alți factori care stimulează formarea de prolactină (fenotiazinele-Turkington, 1972).

Plecîndu-se de la observația (neverificată pe scară largă) că psihopatele tratate îndelungat cu clorpromazină fac rar cancere mamare (experimental acest drog inhibă unele tumori la hamsteri), s-a propus administrarea clorpromazinei în tratamentul cancerului mamar (Ettigi, 1973). De asemenea, indometacinul și aspirina dovedindu-se capabile să inhibe efectul osteolitic și hipercalcemia din carcinomul Walker 256 metastatic la șobolan (Powles, 1973) și să diminue durerile, favorizînd recalcificarea unor metastaze osoase

în clinica umană, au început să fie aplicate curent în tratamentul cancerului mamar (Stoll, 1973). Efectul indometacinei și aspirinei pare să țină de acțiunea lor frenatoare asupra formării prostaglandinelor din țesuturi (Flower și Vane, 1972 — citat de Papaioannou, 1973).

Unii autori susțin că prostaglandinele ar favoriza dezvoltarea cancerului (Weeks, 1973).

În rezumat, se înregistrează numeroase ipoteze asupra rolului alimentației în geneza cancerului mamar, dar pentru confirmarea lor sînt necesare studii pe loturi mari de populații.

17.3.

Concluzii

Cu toate că există numeroase contradicții între diferitele modele experimentale sau anchete epidemiologice pe diferite populații umane, contradicții ce fac imposibilă tragerea unor concluzii definitive asupra unor detalii ale problemei, există totuși o concluzie generală ce poate fi formulată: în geneza bolii canceroase factorii alimentari joacă un rol indiscutabil. Dovada cea mai elocventă este scăderea incidenței cancerului gastric în SUA o dată cu modificarea tipului de alimentație a populației; un alt argument epidemiologic este că populații emigrate în altă țară (din Africa sau Japonia în SUA) și care adoptă dieta americană, ajung să facă neoplazii în proporții aproape similare cu autohtonii.

Este indiscutabil că supraalimentarea, grăsimile în exces, ingerarea de substanțe cancerigene incluse în alimente (nitrozamine, aflatoxine, hidrocarburi cancerigene etc.), flora microbiană enterală producătoare de substanțe cancerigene endogene, modul de preparare și conservare a alimentelor, oligoelementele, vitaminele etc. joacă un rol important în etiopatogeneza unor cancere, dacă nu chiar a tuturor cancerelor.

Ne aflăm abia la începutul descifrării acestei probleme complexe, dar s-au fixat deja unele jaloane precise, care permit cercetări epidemiologice fructuoase în viitor, care deja au fost întreprinse în unele țări. Este suficient să menționăm că Institutul Național de Cancer al Statelor Unite, cu sediul la Washington a și elaborat un vast program epidemiologic, axat exclusiv pe relația dintre alimentație și cancer (Gio Gory, 1978), ce se desfășoară paralel cu alt program vast de cercetare, referitor la corelația dintre poluarea mediului și oncogeneza.

Să ne amintim că în primele decenii ale secolului nu se știa că o alimentație corectă poate preveni boli ca rahitismul, beriberi, anemia pernicioasă; în prezent aceste boli pot fi practic prevenite sau combătute printr-o alimentație rațională.

Cînd vom ajunge oare să prescriem diete care să prevină sau să reducă incidența anumitor cancere?

Stadiul actual al cercetărilor epidemiologice permite un optimism moderat în această problemă atît de complicată.

Unii autori, mai optimiști (Gio Gory, 1978), întrevăd chiar formularea unor diete specifice care să fie incluse în schemele terapeutice ale diferitelor localizări ale bolii canceroase.

Bibliografie

A) NUTRIȚIA ȘI CANCERUL

- ARMSTRONG B., DOLL R. — *Brit. J. Prev. Soc. Med.*, 1975, 29, 73—81.
CLAYSEN D. — *Cancer Research*, 1975, 35, 3 292—3 300.
GORI G. — *Bull. Cancer (Paris)*, 1978, 65, 115—126.
GRICIUTE LAIMA — *Bull. Cancer (Paris)*, 1978, 65, 53—58.
HIGGINSON J., TERRACINI B., AGTHE C. — Nutrition and cancer: ingestion of foodborne carcinogens, Schottenfeld (D) editor, *Cancer epidemiology and prevention*, Ed. Charles Thomas, Springfield, USA, 1975, p. 177—206.
HIWELL M. A. — *Brit. J. Cancer*, 1974, 29, 328—336.
HOLLEB AR. — *Cancer Res.*, 1975, 35, 3 387—3 388.
LAMBERT T. — *Bull. Cancer (Paris)*, 1978, 65, 71—72.
LOWENFELS A., ANDERSON MARY — *Cancer (Philad.)*, 1977, 39, 1 809—1 814.
MAUGH T. H. — *Science*, 1974, 186, 1 198.
MITTMANN O. — *Krebsarzt (Viena)*, 1961, 16, 66—74.
PETERS J. — *Cancer Res.*, 1975, 35, 3 301—3 303.
WYNDER E. L. — *Cancer Res.*, 1975, 35, 3 238—3 239.
WYNDER ER. — *Cancer Res.*, 1975, 35, 3 548—3 550.

B) CANCERUL ESOFAGIAN

- BERG J. W. — Diet. In: *Persons at high risk of cancer*, Ed. J. Fraumeni, Academic Press, 1975, p. 201—224.
GRICIUTE L. — *Bull. Cancer*, 1978, 65, 55—58.
HORIE A., KOHCHI S. — *Gann*, 1905, 56, 429—441.
* * * — Joint Iran-Irac study group — *J. nat. Cancer Inst.*, 1977, 59, 1 127—1 138.
KMET J., MAHBOURI E. — Oesophageal cancer studies in the Caspian Littoral of Iran. Initial observation. In: Jussawalla, D. J. and Doll R., Eds., *International seminar on epidemiology of oesophageal cancer*, 1971, Monograph, 1, 31—44.
KURATSUNE M., KOHCHI S., HORIE A. — *Gann*, 1965, 56, 177—187.
KURATSUNE M., KOHCHI S., HORIE A., NISHIZUMI M. — *Gann*, 1971, 62, 395—405.
MAHBOUBI E., KMET J., COOK P. J. și colab. — *Brit. J. Cancer*, 1973, 28, 197—214.
SCHWARTZ I., LELOUCH J., FRAMANT R., DENOIX P. F. — *Rev. franç. et clin. biol.*, 1962, 590—604.
TUYNS A. J., MASSE I. M. F. — *Int. J. Epid.*, 1973, 242—245.
TUYNS A. J., PÉQUIGNOT G., JENSEN O. — *Bull. Cancer (Paris)*, 1978, 65, 59—64.
TUYNS A. J., PÉQUIGNET G., JENSEN O. — *Bull. Cancer (Paris)*, 1977, 64, 45—60.
WYNDER E. L., HULTBERG S., JACOBSSON F., BROSS I. J. — *Cancer (Philad.)*, 1957, 10, 470—487.
WYNDER E. I., BROSS I. J. — *Cancer (Philad.)*, 1901, 13, 389—413.

C) CANCERUL GASTRIC

- CHIRICUȚĂ I., VOICU LIVIA — Etlopatogeneza cancerului gastric. Referat general prezentat la Institutul oncologic, Cluj-Napoca, decembrie 1978.
CORREA P., CUELLO C., DUGUE E. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1970, 44, 397—406.
CORREA P., HAENSZEL W. — Comparative international incidence and mortality. in: D. Schottenfeld (ed.) *Cancer Epidemiology and Prevention*, p. 386—403 (Charles C. Thomas, edit.), Springfield, Ill., 1975.
DOLL R., MUIR C., WATERHOUSE J. — Cancer incidence in five continents, vol. II, *International Union against Cancer*, Ed. Springer, New York, 1970.
GARTNER W. A. — *Cancer Res.*, 1975, 35, 3 246—3 253.
GRAHAM S., LILIENFELD A. M., TIDINGS J. E. — *Cancer (Philad.)*, 1967, 20, 2 224—2 234.
HAENSZEL W., KURIHARA M. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1968, 40, 43—68.
HAENSZEL W., KURIHARA M., SEGI M., LEE R. K. C. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1972, 49, 969—988.
HANKIN J. H., NOMURA A., RHOADES A. G. — *Cancer Res.*, 1975, 35, 3 259—3 264.
HIRAYAMA T. — *Acta Un. Int. Cancer, Monograph Ser.*, 1967, 10, 37—48.
HIRAYAMA T. — *Cancer Res.*, 1975, 35, 3 480—3 483.

MIRVISH S. — Kinetics of N-nitrosation reactions to tumorigenesis experiment with nitrite plus amines or ureas, Capitol din Bogovski P. ș.a. — N-nitroso compounds analysis and formation, Lyon International Agency for Research and Cancer (IARC), Scientific Publications, NO. 3, 1972, p. 104–108.

OISO T. — *Cancer Res.*, 1975, 35, 3 254–3 258.

VOITELOVICH E. A., DIKUN P., DYMANSKII N., SHABAD L. M. — A comparative study of the incidence of malignant tumours in the Turke in the district of the Latvian SSR, Vaprosi Onkologii, 1957, p. 351.

WYNDER E. L., KMET J., SEIG M. — *Cancer (Phllad.)*, 1963, 16, 1961.

D) CANCERUL RECTO-COLIC

ARIES V. și colab. — *Gut*, 1969, 10, 334.

BANDURU S. N. și colab. — *Cancer (Phllad.)*, 1974, 34, 803.

BURKITT D. P. — *Cancer (Phllad.)*, 1971, 28, 3–13.

FODOR O., STĂNESCU L., DEJICA D. — Recto-colita hemoragică, Ed. Acad. R.S.R., 1979.

HEYDEN S. — *Klinische Epidemiologie des Krebses*, Ed. Thieme, Stuttgart, 1971.

HILL M. L. și colab. — *Lancet*, 1971, I, 7690, 95.

HILL M. I. și colab. — *Lancet*, 1978, 245.

IRVING D., DRASAR B. S. — *Bril. J. Cancer*, 1973, 28, 472.

LAZĂR L. — Etiopatogenia cancerului colo-rectal, Referat prezentat la Institutul oncologic, Cluj-Napoca, ian. 1980.

LANIER P. — *Cancer (Phllad.)*, 1973, 31, 606.

MacLENAN R. — *Bull. Cancer*, 1975, 62, 411.

ROSE G. și colab. — *Lancet*, 1974, I, 7859, 181.

SAXON-GRAHAM, DAYAL H., SWANSON MYA și colab. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1978, 61, 8, 709–714.

SILVERBERG E., HOLLEB A. I. — *Cancer statistic*, 1975–1978.

* * * — UICC. Technical Report Series, vol. 19. Colorectal cancer, Geneva, 1975.

WILLIAMS R. E. O. — Al XI-lea Congres internațional de oncologie, Florența (Italia), 1974 vol. II.

E) CANCERUL HEPATIC

LINSELL C. A., PEERS F. G. — The aflatoxins and human liver cancer, Capitol din: Grundmann și Tulinius: Current Problems in the Epidemiology of Cancer and Lymphomas, Ed. Springer-Verlag Berlin, 1972, p. 125–129.

PEERS F. G., GILMAN G. A., LINSELL C. A. — *Intern. J. Cancer*, 1976, 17, 167–176.

WOGAN G. N. — Assessment of exposure to aflatoxins, Capitol din: Doll R., Vodopița I.: Host Environment Interactions in the Etiology of Research on Cancer, IARC — Scientific Publications, 1973, p. 237–242.

F) CANCERUL DE ENDOMETRU

CIOLTEI ANCA — Sterilitatea la femeie. Fiziopatologie, diagnostic, tratament, Ed. științifică și enciclopedică, București, 1979, p. 359

EDMAN C. D., MacDONALD P. S. — The role of extraglandular estrogen in women in health and disease, In: The Endocrine Function of the Ovary, Academic Press, Londra, 1976, p. 135.

EDMAN C. D., MacDONALD P. C. — *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 1978, 130, 456–461

GAVRILESCU H. T. — Etiopatogenia cancerului de endometru, Referat prezentat la Inst. Oncologic, Cluj-Napoca, febr. 1980

GEORGIAN MIHAELA — Amenoreele postabortum și postpartum, Ed. medicală, București, 1979, 145

GUSBERG S. B. — *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1975, 68, 1–6

LONGCOPE C. — *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 1971, 111, 778

MacDONALD P. C., SIITERI P. K. — *Gynecol. Oncol.*, 1971, 2 159

MacDONALD P. C., EDMAN C. D., HEMSELL D. L., PORTER J. C., SIITERI P. K. — *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 1978, 130, 448–455

NIMROD A., RYAN J. K. — *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1975, 40, 367–372

RIZKALLAH T. H., TOVELL H. N. M., KELLY W. G. — *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1975, 40, 1 045

18.

Fumatul și cancerul

GH. BOLBA

Cuprins

- 18.1. Generalități — 511
- 18.2. Substanțele chimice din tutunul nears — 512
 - 18.2.1. Substanțele cancerigene din tutunul nears — 514
 - 18.2.1.1. Nitrozaminele — 514
 - 18.2.1.2. Hidrazinele — 515
 - 18.2.1.3. Alte substanțe organice și anorganice — 511
- 18.3. Aditivi ai tutunului — 516
 - 18.3.1. Agenți inhibitori ai hidraților de carbon — 516
 - 18.3.2. Pesticidele — 517
- 18.4. Natura fizico-chimică a fumului de țigarete — 517
- 18.5. Relația dintre fumat și unele localizări ale cancerului — 522
- 18.6. Fumatul și incapacitatea temporară de muncă prin alte boli și accidente — 531
- 18.7. Măsuri de combatere a fumatului — 532

18.1.

Generalități

Abordarea unei asemenea probleme într-un tratat care se adresează medicilor și studenților în medicină este pe deplin justificată prin:

— rolul medicului ca factor activ, decisiv, în profilaxia și combaterea cancerului;

— poziția pasivă a unor medici față de „poluarea personală” — fumatul produselor tabagice — atât față de pacienții lor, cât și în cadrul unor acțiuni organizate de combatere a fumatului în marea masă a populației și

— ignoranța studenților în medicină privind spectrul larg și pericolul pe care îl reprezintă substanțele cancerigene existente pe întreaga întindere a acestui flagel, începând cu planta verde, continuând cu tutunul nears și terminând cu fazele de combustie — gaz și aerosol — ale produselor tabagice comercializate sub diverse forme.

În cele ce urmează vom căuta să aducem nu numai informații privind o problemă de sănătate publică, ci și să convingem pe medic și viitorul medic să devină un model pe cât de pregătit, pe atât de conștient dacă nu în eradicarea totală a fumatului, cel puțin în limitarea substanțială a efectelor cancerigene și nu numai cancerigene ale fumatului produselor din tutun.

Regula generală, aportul practic cel mai important al medicului în campania antitabac este una singură și anume ca *medicul să nu fumeze niciodată în fața pacientului său*. O asemenea atitudine are un impact deosebit asupra bolnavului care consultă un medic, grație concordanței care există între sfaturile date bolnavului și exemplul pe care îl oferă.

Cele mai recente cercetări medicale arată că tutunul este în prezent pe departe cel mai important „drog”, depășind atât alcoolul, cât și substanțele stupefiante. Utilizarea în masă a produselor de tutun este un fapt „consumat” pe scară mondială, atât cu implicații industriale, economice, sociale, cât și asupra sănătății individului și colectivității umane.

Indigenii Lumii Noi fumau frunzele uscate de tutun din diverse motive (religioase, medicale etc.), fapt cu totul inedit — pe lângă atâtea altele! — observat de marinarii lui Columb. Aceștia „au văzut mulți oameni... cu tăciuni și cu anumite ierburi parfumate”. Era tutunul, care va aduce în viitor mai multe beneficii decât aurul și mirodeniile pe care Columb le căutase zadarnic. Chiar denumirea de tabac i-a fost dată plantei de la insula Tobago. Planta ca atare, originară din Lumea Nouă, a fost introdusă în Europa mai ales în Portugalia și Spania. Ulterior și în Franța, pe la mijlocul secolului al XVI-lea, de Jean Nicot, ambasadorul Franței în Portugalia. Denumirea botanică a plantei, *Nicotiana tabacum* rezultă prin urmare din asocierea numelui ambasadorului francez cu a insulei din Antile.

Este imposibil ca Jean Nicot să-și fi imaginat impactul multilateral al produselor tabagice asupra omenirii, când lauda virtuțile medicale ale acestei plante în fața Catherinei Medicis, după cum nici Columb nu și-a putut da seama că tutunul pe care-l remarcase ca o simplă curiozitate locală va cuceri în secolele următoare lumea întreagă. Cultivarea tutunului de către coloniștii stabiliți pe teritoriul actualelor State Unite s-a extins, unul din marii magnați ai epocii, Sir Walter Raleigh, aducând de acolo tutun spre a-l oferi reginei Elisabeta I a Angliei.

Plantele de tutun cultivate aparțin într-o proporție de 90% speciei *Nicotiana tabacum*, iar circa 10% speciei *Nicotiana rustica*, toate speciile de tabac (circa 60 la număr) fiind incluse în genul *Nicotiana*. Nu vom intra în detalii privitoare la cultivarea tutunului, dar semnalăm faptul că în perioada de vegetație culturile de tutun sînt supuse unor proceduri de stropire cu substanțe chimice diverse, din care unele au proprietăți cancerigene sau cocancerigene.

Există diferite tipuri de tutun în funcție de diverși factori (regiune geografică, sol, condiții de cultivare, prelucrare și folosire), dar în general tutunul, constituentul principal al articolelor de fumat (țigarete, țigări, tutun de pipă), mestecat sau pentru prizat, conține numeroase substanțe chimice.

18.2.

Substanțele chimice din tutunul nears

Hidrați de carbon (glucide)

- glucoză 11%
- pectină 10,7%
- celuloză 9%
- fructoză 7,8%

- sucroză 4%
- amidon 4%
- hemiceluloză 1,6%

Acizi organici nelipidici

- acid malic 10,1%
- acid oxalic 1%

- acid citric 0,6%
- polifenoli și alți acizi organici (alcooli, cetone) 2%

Total compuși conținând N 11,1%
(acizi aminați, proteine, alcaloizi din care cel mai important: nicotina 0,5—8%)

Total rezine 9,8%

Lignină 3,5%

Cenușă 13,2%

(Frankenburg și Gilbert, modificat)

Extractul brut din tutun s-a dovedit a fi cancerigen. Dar din multitudinea de substanțe organice și anorganice care intră în compoziția sa chimică, ce substanță sau ce grup de substanțe chimice au acțiune cancerigenă sau cocancerigenă? Cercetările efectuate în multe laboratoare și dezbătute cu ocazia diverselor reuniuni internaționale privind rolul nefast al tutunului și produselor sale asupra sănătății au clarificat în mare parte această problemă.

Se admite în prezent că extractul apos brut din tutun conține 2 grupe de substanțe:

- cu greutate moleculară mare (GMM), insolubile în solvenții organici (avînd totuși un grad redus de solubilitate în apă) și

- cu greutate moleculară mică (GMm) solubile în solvenți organici, dar și acestea parțial solubile și în apă.

Din frunzele de tutun tratate prin uscare la aer liber rezultă extracte cancerigene mai active decît din frunzele uscate cu ajutorul dispozitivelor mecanice, prin absorbție cu ajutorul unor curenți de aer cald.

Extractul din frunze proaspete verzi, netratate cu pesticide sau alți agenți chimici utilizați pentru culturile de tabac au un nivel foarte scăzut de activitate tumorigenă.

Sub aspectul inducerii experimentale a tumorilor la animalele de laborator s-a observat că nici una din cele 2 grupe de substanțe luate separat, fie cu GMM sau GMm, nu au acțiune cancerigenă.

A mai fost determinat faptul, rezultat din analiza chimică fracționată a extractului de tutun, că o bază organică este constituentul activ din substanțele cu GMm, și că în amestecul rezultat dintre substanțele cu GMM și nicotină, aceasta din urmă ar avea proprietăți similare cu ale bazei organice din GMm.

De la aceste constatări s-a tras concluzia că există o corelație între conținutul de nicotină al extrasului și puterea tumorigenă a acestuia, concluzie care s-a dovedit ulterior că nu este riguros exactă, deoarece o concentrație crescută de nicotină a extractului tabagic nu coincide totdeauna cu o activitate tumorigenă puternică.

O altă constatare a provocat o altă dezamăgire cercetătorilor: nicotina singură, izolată, nu are activitate cancerigenă în experimentele la animal. În plus, amestecată în concentrații crescute cu substanțele GMM din extract, nicotina s-a dovedit mai puțin activă, în schimb amestecul de substanțe GMM cu o concentrație scăzută de nicotină s-a dovedit mai activ din punct de vedere tumorigen.

În primele 2 conferințe internaționale cu tema „Fumatul și sănătatea” s-a precizat faptul că:

- extractul crud de tutun se poate separa în 2 componente, fie prin adăugare de metanol în concentrație de 80%, fie prin difuziune în gel;
- acționând separat, fiecare din fracțiuni este inactivă, dar recombinate își recapătă acțiunea cancerigenă;
- substanța insolubilă în metanol își datorează activitatea unui component cu GMM;
- fracțiunea solubilă în metanol este cu GMm, fiind solubilă atât în benzen, cât și în apă.

Experiențe ulterioare prin separarea fracționată a substanței GMm solubilă în benzen în componente acizi, bazici și neutri, precum și combinarea acestor subcomponente cu fracțiunea insolubilă în metanol (componentul brut cu GMM) au avut ca rezultat deosebit de interesant faptul că nicotina este un constituent al substanțelor cu GMm. Un alt fapt care întărește această afirmație este prezența nitrozo-nornicotinei în tutunul nears (uscă), precursorul acestei substanțe fiind nicotina. Se pare însă că prezența nitrozo-nornicotinei și acțiunea sa cancerigenă ar fi dependente de modul de prelucrare a tutunului.

18.2.1.

Substanțele cancerigene din tutunul nears

Arbitrar, aceste substanțe pot fi clasificate astfel: nitrozamine (NA), hidrazine (H) și alte substanțe organice și anorganice.

18.2.1.1.

Nitrozaminele

Cea mai importantă nitrozamină din tutun este nitrozo-nornicotina (NNN), derivată din nornicotină sau nicotină. Această substanță se găsește în tutunul de priză, de mestecat sau în cel din țigarete sau trabucuri.

O altă NA este nitrozo-anbazina (NAB), găsită în cantități foarte mici în tutun și care experimental s-a dovedit a avea acțiune cancerigenă la șobolani.

De asemenea, au fost puse în evidență atât în tutunul nears, cât și în fumul produselor tabagice și alte NA volatile ca de pildă dimetil-nitrozamina (DMN), nitrozo-pirolidina (NPL) și nitrozo-piperidina (NPP).

Conținutul NNN este variabil în tutunul de țigarete. Așa de pildă în țigarele americane au fost determinate cantități între 2,2 și 88,6 micrograme la un gram greutate de tutun uscat, reprezentând cea mai crescută concentrație de NA din mediul extern.

Se consideră că NA au acțiune cancerigenă specifică asupra unor organe la animalele de experiență.

Di-n-butilnitrozamina are acțiune de cancerizare a vezicii urinare la șobolani, diizopropanol-nitrozamina determină cancerizarea pancreasului la hamster, iar NNN induce cancer esofagian la 14 șobolani din 20, dacă se administrează o cantitate de 630 mg/șobolan în apa de băut într-o perioadă de 30 de săptămâni.

Dacă extractele de tutun au putut demonstra activitatea lor cancerigenă la animalele de experiență, se poate admite, cel puțin parțial, că asemenea

GRUPUL	NITROZAMINE	NR. ZILE DUPĂ PRIMA APLICARE DE NITROZAMINE				
		180-210	211-240	241-270	271-300	301-330
I	N-NITROZO-NORMICOTINĂ	□	□ □	□△● □	□ □	□ □ □ □ ● ●
II	N-NITROZO-ANABAZINĂ			□△		
III	1,4-DINITROZO-PIPERAZINĂ	□	□ □ □ □ △	□ □ □ □ □ □ △ △ △	□ □ □ □ △	

□ Tumoare benignă esofag 1 ■ Tumoare malignă esofag
 △ Tumoare benignă faringe 2 ▲ Tumoare malignă faringe
 3 ● Cancer fose nazale

Sursa: Proceedings 3/World Conference Smoking & Health (Hecht, Schmeltz, Hoffman, Wynder)

Fig. 18.1. — Incidența tumorilor esofagiene, faringiene și ale căilor aeriene superioare induse experimental.

efecte pot să apară și la om. Se consideră că NA au acțiune cancerigenă la om și anume în apariția cancerului cavității bucale, plămînelor și stomacului.

În experiențele lor, Hecht și colaboratorii au arătat că este posibilă formarea de NA în salivă, din nitrații și aminele secundare care apar în timpul mestecatului de tutun.

Bazându-se pe studii epidemiologice, Bhaskara Reddy subliniază relația dintre mestecatul de tutun și cancerul cavității bucale, în India. Așa, de pildă, în districtul Mainpuri din statul Uttar Pradesh incidența cancerului cavității bucale este de 21,4 la 100 000 locuitori. La fumătorii „bidi” (fumatul „bidi” constă în introducerea capătului aprins al țigării în cavitatea bucală) cancerul se localizează îndeosebi pe peretele posterior al orofaringelui, în comparație cu cancerul cavității bucale situate în partea anterioară a cavității bucale la cei care mestecă tutun sau betel.

Atît tutunul de mestecat, cît și țigaretile indiene au un conținut ridicat de nicotină în raport cu țigaretile americane.

În cadrul unui studiu epidemiologic al cancerului gastric efectuat în Institutul nostru (Bolba, Bara), cercetîndu-se nivelul nitriților în saliva bolnavilor fumători s-a constatat că este de 12,0 ppm., în raport cu 6,8 ppm determinat la martori.

18.2.1.2. Hidrazinele

Din punctul de vedere al acțiunii cancerigene a acestui grup de substanțe intră în discuție hidrazina (H) și dimetilhidrazina (DMH).

Hidrazinele par să se formeze din NA, dar se presupune și posibilitatea că ar lua naștere din hidrazida maleică (HM).

Hidrazinele au fost puse în evidență prin reactivitatea lor cu derivați fluorinați; H cu pentafluor-benzaldehidă rezultând decafluor-benzaldehidă, respectiv pentafluor-fenolhidrazină în cazul DMH. DMH administrat la șoareci în apa de băut, în concentrație de 0,01% determină apariția angiosarcomelor în diverse organe, precum și alte tumori (hepatice, pulmonare și renale).

18.2.1.3.

Alte substanțe organice și anorganice

Din grupa substanțelor organice se menționează prezența în tutunul nears și a hidrocarburilor aromate policiclice (HAP) dar în cantități foarte reduse. Unii autori au susținut și existența cumarinei în tutun, substanță aflată în relație cu aflatoxinele, dar pînă în prezent această afirmație nu a putut fi demonstrată.

În tutun se găsesc numeroase substanțe anorganice, metalice, din care unele pot fi cancerigene la animalele de experiență sau au fost incriminate că au un rol cancerigen în condiții profesionale. Așa sînt arsenicul, cadmiul, cromul, cobaltul, mercurul, azotul, plumbul sau seleniul, respectiv izotopii plumb²⁵ și poloniu²¹⁰, emițători de radiații alfa.

Dar substanțele anorganice menționate sînt prezente în cantități extrem de mici în tutun, comparativ cu cantitățile utilizate în experiențele făcute pentru determinarea apariției unor efecte biologice specifice la animale. În privința substanțelor radioactive detectate în plante (tutun) acestea ar putea proveni din substanțele fertilizante în agricultură sau ca urmare a ploilor cu conținut radioactiv.

18.3.

Aditivi ai tutunului

Problema substanțelor aditive în prepararea tutunului și a produselor acestuia nu este deocamdată rezolvată din punctul de vedere al cunoașterii potențialului cancerigen sau cocancerigen, crescut, scăzut sau nul și al posibilității ca acești aditivi să reprezinte precursori sau inhibitori ai unor agenți cancerigeni în fumatul de țigarete.

După cum am mai arătat, potențialul cancerigen al tutunului depinde și de prezența sau absența unor substanțe chimice utilizate în culturile agricole ale tutunului. Aceste substanțe chimice sînt: inhibitori ai hidraților de carbon, pesticide și fertilizatori chimici obișnuiți.

18.3.1.

Agenți inhibitori ai hidraților de carbon

Hidrazida maleică (HM), așa cum am mai arătat, ar putea să dea naștere hidrazidelor. Există însă cercetători care susțin că HM nu are acțiune cancerigenă evidentă.

Acetatul dodecil-dimetil-amoniu (DDA) s-a dovedit că are o puternică acțiune tumorigenă, motiv care a determinat scoaterea lui din uz în S.U.A.

Tween 20 (polixietilen-20-sorbitan-monoleat) și Tween 80 (polixietilen-20-sorbitan-monolaurat) s-au dovedit activi din punct de vedere cancerigen pentru animalele de experiență la o concentrație mai mică de 0,3%.

18.3.2.

Pesticidele

Acest grup include substanțele insecticide și fungicide.

Sub aspectul activității cancerigene, ca urmare a testării unora din pesticide, cercetătorii au ajuns la concluziile următoare:

- a) active
 - Amilazină = 2,4-dicloro-6-(o-cloro-anilino) S-triazina;
 - TDF = 1,1-dicloro-2,2-bis (p-clorofenil) etanol;
 - Parationul = 0,0-dietil-o-(p-nitrofenil) fosfortioatul;
- b) acțiune echivocă
 - M-2 680-85% diclorpropen + 15% cloropirină;
 - EDB = etilen-dibromidul;
- c) inactive
 - Malationul = dietil mercapto-succinat S-ester + 0,0 dimetilfosforo-ditocat;
 - Ferbamul = feri-dimetil-ditiocarbamatul;
 - Manebul = etilenbis (ditiocarbamat) mangan;
 - Ethoprepul = o-etil S,S-dipropil-fosfor-ditocatul;
 - DD-MENCS = hidrocarburi C_8 conținând 1,3-diclor-propen;
 - Mixtură de diclor-propan-diclorpropen.

Indiferent de acțiunea lor cancerigenă puternică sau slabă, uneori dovedită nulă în cazul unor substanțe testate izolat, semnalăm mecanismul sinergic de cancerizare al unor agenți cancerigeni separați în cantități sub pragul de acțiune. Astfel, TPA (12-o-tetradecanoil ferbol acetatul) în concentrații sub pragul lui de acțiune, acționează sinergic cu benzpirenul (BP).

Înainte de a trece la analiza fizico-chimică a fumului de țigarete, amintim că nicotina și gudronul (în englezește „tar”) rezultate din arderea țigaretelor și a altor produși ai tutunului sînt cei mai importanți componenți cu acțiune farmacodinamică ai tutunului și produselor acestuia.

Prin noțiunea de „gudron” (de tutun) înțelegem masa totală de particule (MTP) minus nicotina și apa.

18.4.

Natura fizico-chimică a fumului de țigarete

Depinde de numeroși factori: tutunul propriu-zis (specia-sortimentul), temperatura la care arde tutunul, caracteristicile atmosferei reductoriale și caracteristicile țigaretii (cu sau fără filtru, lungime, porozitatea hîrtiei etc.).

Fumul format la capătul aprins al țigaretii este un aerosol conținând între 2 și 3 bilioane particule/mm³ cu diametru între 0,1—1,0 microni, dispersat în faza de gaz. Faza de aerosol reprezintă 92%, iar cea de gaz 8% din fumul din țigarete.

Analiza chimică a fumului de țigarete a pus în evidență circa 2000 de compuși chimici, din care mulți cu influență asupra organismului uman, îndeosebi compușii aflați în faza de dispersie particulată.

Compoziția chimică a fumului de țigarete este în funcție de temperatura la care se ard diversele substanțe chimice componente ale tutunului. Unele

din ele, ca de exemplu ditriacontanul, trec direct nemodificate în fumul de țigaretă, în timp ce alte substanțe sînt transformate în timpul procesului de ardere în alți compuși chimici.

Substanțele cerate ale frunzelor de tutun reprezintă cei mai importanți precursori ai hidrocarburilor aromate polinucleare (HAP), în special al HAP-alkil.

Temperatura de ardere a țigaretii joacă un rol important în formarea și compoziția chimică a fumului de țigaretă.

La o temperatură de 300°C vaporii din condensatul de tutun încep să dea naștere fumului, la 450°C tutunul se carbonizează, iar la 600°C tutunul se aprinde și arde.

Temperatura este variabilă atît de-a lungul țigaretii, cît și în timpul aspirației (al pufăielii) fumului de către om sau mașina de fumat.

În aceste condiții țigareta aprinsă este un combinat (fabrică) în miniatură, determinînd apariția de produși noi din materia brută, tutunul, care intră în compoziția țigaretii.

Substanțele foarte volatile — așa cum am arătat anterior — trec direct în fum, în schimb cele mai puțin volatile se transformă în noi compuși chimici prin degradare termică. Așa de pildă unii compuși ai tutunului, la temperaturi foarte înalte de 800°C sau peste 800°C, temperatură ce se realizează în zona conului de ardere și în imediata vecinătate a acestuia, pot fi transformați în HAP și alți compuși cancerigeni. Harke atribuie HAP cel mai important rol în cancerogeneză, acești compuși chimici fiind responsabili în cel puțin 50% pentru acțiunea de inducere a cancerului.

Tabelele 18.I și 18.II arată structura chimică a fazei de gaz și a fazei de aerosol a fumului de țigaretă (Schmeltz, Hoffmann și Wynder).

TABELUL 18.I

COMPONENTA FAZEI DE GAZ A FUMULUI DE ȚIGARETĂ (μg / ȚIGARETĂ*)

CO : Oxidul de carbon	13 400	(CH ₃) ₂ N—H=O: Dimetilnitro-	
CO ₂ : Bioxidul de carbon	50 600	zamina	0,08
NH ₃ : Amoniacul	80	(CH ₃) (C ₂ H ₅)N—N=O Metiletil-	
HCN**: Acidul cianhidric	240	nitrozamina	0,03
C ₃ H ₆ : Izoprenul	582	NH ₂ —NH ₂ : Hidrazina	0,03
CH ₃ CHO: Aldehida acetică	770	CH ₃ —NO ₂ : Nitrometanul	0,05
CH ₂ =CH—CHO: Acroleina	81	C ₂ H ₅ —NO ₂ : Nitroetanul	1,1
C ₆ H ₅ —CH ₃ : Toluenul	108	C ₆ H ₅ —NO ₂ : Nitrobenzenul	25,0
		C ₆ H ₆ : Benzenul	67,0

NOTĂ

* țigaretă standard, fără filtru, lungime 85 mm — SUA

** cantitate numai în faza de gaz (în faza de aerosol este în cantitatea de 74 μg / țigaretă)

Unele efecte ale temperaturii înalte de ardere a țigaretii în timpul fumatului sînt deosebit de interesante.

— Dotriacontanul, o hidrocarbură C₂₂, este reprezentativ pentru parafinele cu GMM din tutun. Prin piroliză, folosind dotriacontan, cercetătorii au arătat că acesta poate să dea naștere la 3 grupe de substanțe detectate în fumul de țigaretă: hidrocarburi aromate, inclusiv HAP, alkeni și o cantitate mai redusă de hidrocarburi aromate simple (HAS).

TABELUL 18.II

COMPONENTII FAZEI DE AEROSOL A FUMULUI DE ȚIGARETĂ ($\mu\text{g}/\text{ȚIGARETĂ}^*$)

MTP umedă	31 500	N-Metilcarbazol	0,23
MTP uscată	27 900	Indol	14,0
MTP (gudron- H_2O -nicotină)	26 100	N-Metil-Indol	0,42
Nicotină	1 800	Benz-(a)antracen	0,044
Fenol	86,4	Benzo (a) piren	0,025
o-Cresol	20,4	Fluoren	0,42
m- și p-Cresol	49,5	Fluoranten	0,26
p-Etilfenol	18,2	Crizen	0,04
beta-naftilamina	0,028	DDD	1,75
2,4-dimetilfenol	9,0	DDT	0,77
NNN	0,14	4,4-Diclorestilben	1,73
Carbazol	1,0		

NOTĂ

* : țigarete standard, fără filtru, lungime 85 mm — SUA

** : cantitate numai în faza de gaz (în faza de aerosol este în cantitate de 74 $\mu\text{g}/\text{țigaretă}$).

— Hidrații de carbon (zaharurile) din tutun, prin piroliză la 840°C dau naștere la un amestec de substanțe ca HAP, HAS, furani, fenoli și acizi. CO și CO_2 rezultă din descompunerea hidraților de carbon, detectându-se în faza de gaz.

Fitosterolii. Cel mai important din fitosteroli este stigmasterolul. Alți steroli din tutun: colesterolul, beta-sitosterolul și campesterolul. În timpul fumatului 21% din cantitatea de steroli trece în fumul de țigaretă. Tracer (citât de Schmeltz) arată că circa 2% din steroli se transformă în HAP. Stigmasterolul poate să dea naștere și la alți compuși, ca de pildă naftalina și alkinafalina, aceasta din urmă cu proprietăți cancerigene asemănătoare fenolilor. Naftalinele și fenolii se formează la temperaturi mai scăzute decât HAP (exemplu benzpirenul) cu acțiuni cancerigene, cu temperatură optimă de formare peste 900°C .

Nicotina este cel mai important alcaloid din frunzele de tutun, iar produșii la care dă naștere la temperaturi înalte, influențează indubitabil atât caracteristicile chimice, cât și proprietățile biologice ale fumului din produse de tutun.

Experimental, prin piroliză la temperatură de 860°C în atmosferă de azot, nicotina dă naștere la diverse substanțe neutre (benzen, toluen, fenantren etc.) și bazice (piridine, benzacridine etc.). Nicotina, ca atare, nemodificată, trece în proporțe de circa 15% în timpul fumatului în fumul rezultat prin arderea diversilor produși tabagici (țigarette, trabucuri, tutun de pipă), dându-le aroma și gustul caracteristic.

În rezumat, tutunul și produsele acestuia conțin un mare număr de compuși chimici cu certă acțiune biologică, cei mai importanți fiind nicotina, HAP și CO. În funcție de doză nicotina are o acțiune pe cât de complexă, pe atât de contradic-

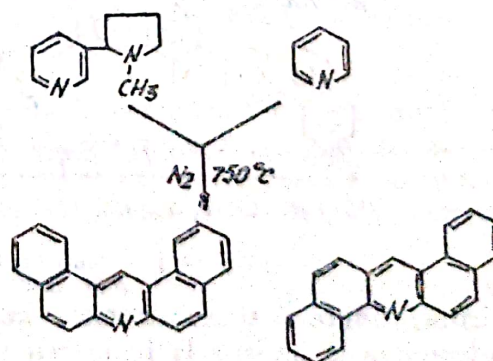


Fig. 18.2. — Dibenzacridinele rezultate din piroliza nicotinei și a piridinei.

torie, mai ales asupra aparatului cardio-vascular, prin intermediul sistemului nervos simpatic. Detalii asupra activității farmacodinamice a nicotinei pot fi găsite în tratatele clasice de farmacologie și nu ne vom opri asupra lor. În urma fumului de țigarete, CO existent în faza de gaz (circa 40%) este resorbit de fumători în alveolele pulmonare, pătrunde în sânge, unde se combină cu hemoglobina, rezultând carboxihemoglobina cu acțiune nocivă binecunoscută.

În cele ce urmează vom dezvolta mai pe larg acțiunea cancerigenă a compușilor tutunului. Este bine cunoscut faptul că din anul 1925, de când Kennaway și colaboratorii au început cercetările de identificare a substanțelor activ cancerigene și pînă în prezent, un mare număr de hidrocarburi au fost testate din acest punct de vedere la animalele de experiență (șoareci, șobolani, iepuri etc.).

Hartwell (citad de Kornitzer) a identificat 481 de substanțe cu acțiune cancerigenă la animal, din care 480 au fost găsite și în produsele de tutun. Wynder, în 1953, induce pentru prima dată tumori benigne și maligne la animalele de experiență, cu substanțe extrase din gudronul de tutun. Ulterior alți autori reușesc să determine apariția de tumori prin aplicare de gudron tabagic în traheea și plămîinii șobolanilor, pe pielea iepurilor sau în traheea cîinilor. Inhalarea pasivă a fumului de țigarete de diverse animale de expe-

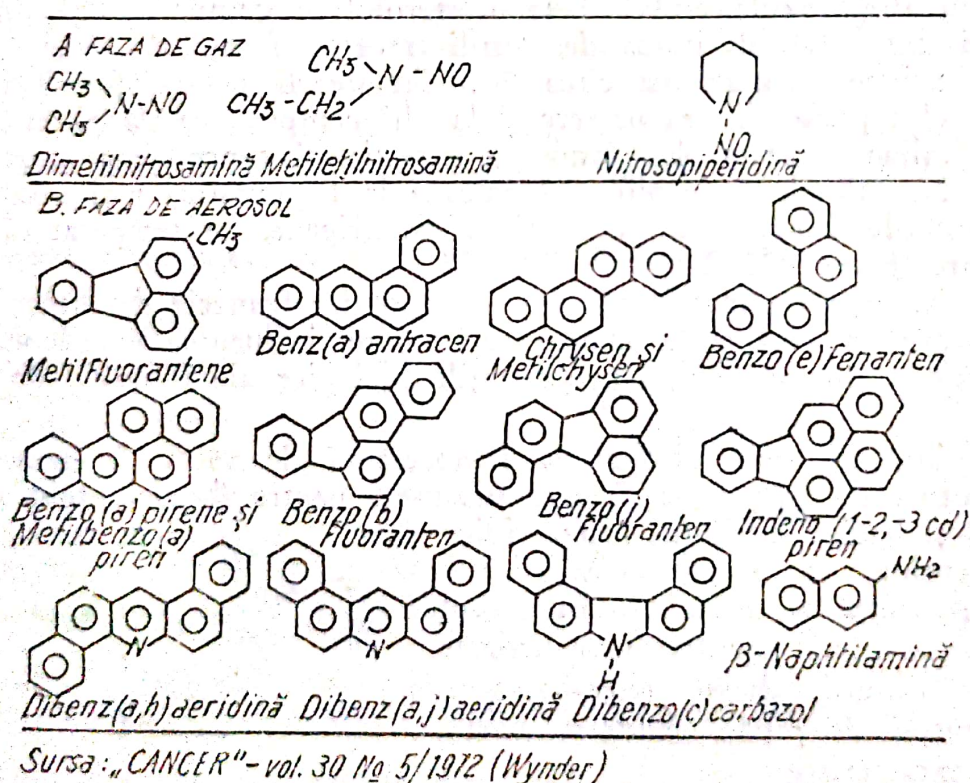


Fig. 18.3. — Substanțe cancerigene în fumul de tutun.

riență, ținute într-o asemenea atmosferă în condiții experimentale, a indus adenoame laringiene la hamsterii sirieni, iar la cîinii traheotomizați, prin aplicarea unui dispozitiv de inspirație-expirație au fost induse papiloame și carcinoame traheobronșice.

Tabelul 18.III cuprinde agenții tumorigeni și toxici ciliari din faza de gaz a fumului de țigarete.

TABELUL 18.III

AGENȚII TERATOGENI ȘI TOXICI CILIARI DIN FAZA DE GAZ
A FUMULUI DE ȚIGARETE

Tipul substanței	Compușii fumului	Concentrația fumului unei țigarete	Autorii
1. <i>cancerigeni</i>			
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C} \\ \diagup \\ \text{N}-\text{NO} \\ \diagdown \\ \text{H}_2\text{C} \end{array}$	Dimetilnitrozamină	5–18 ng	Hoffmann, Johnson, McCormick, Morie, Tso
$\begin{array}{c} \text{R} \\ \diagup \\ \text{N}-\text{NO} \\ \diagdown \\ \text{R}' \end{array}$	Dialkilnitrozamine (5 compuși)	2–80 ng	Hoffmann, Johnson
	Nitrozopiperidină	1–110 ng	McCormick
	Nitrozopiperidină	0–9 ng	McCormick
$\begin{array}{c} \text{NO} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{CHCl} \end{array}$	Hidrazina Vinilclorid	24–43 ng 6–16 ng	Liu Hoffmann
2. <i>promotori cancerigeni (favorizanți)</i>			
HCHO	Formaldehidă	20–90 μg	Stauffer, Wynder
3. <i>agenți toxici ciliari</i>			
HCN	Acid cianhidric	100–700 μg	US Public Health Serv., Wynder
HCHO	Formaldehide	20–90 μg	Stauffer, US Public Health Serv., Wynder
$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{CHO}$	Acroleina	45–140 μg	US Public Health Serv., Wynder
$\text{H}_2\text{C}-\text{CHO}$	Acetaldehida	18–1 440 μg	US Public Health Serv., Wynder

NOTĂ: fumul de tutun este suspectat că are în compoziția lui H_2As (arsina), $\text{Ni}(\text{CO})_4$ (nicel carbonil), diverse nitroolefine, olefine volatile clorinate (ex. vinilcloridul).

Deși în faza de gaz se găsesc substanțe cancerigene, nu au putut fi induse cancere la animalele de experiență utilizând numai faza de gaz a fumului de țigarete. Un singur autor (Leuchtenberger) a determinat pe modelul său experimental apariția de adenoame și adenocarcinoame la șoarecii Snell.

Cele mai importante substanțe tumorigene din faza de gaz sînt reprezentate de nitrozamine, dovedindu-se acțiunea lor cancerigenă la animalele de experiență.

În afara substanțelor cancerigene și a celor care favorizează apariția tumorilor (exemplu formaldehida) așa cum au fost descrise în tabelul 18.III,

În faza de gaz sînt puse în evidență și substanțe chimice cu acțiune toxică ciliară. După cum se știe, în căile respiratorii superioare sistemul mucociliar constituie un important mijloc de apărare împotriva agenților inhalați. Fumul de tutun determină blocarea progresivă a căilor și alterarea în producerea mucusului, modificînd în același timp și proprietățile reologice ale acestuia. În acest fel se favorizează fixarea substanțelor cancerigene pe mucoasa arborelui bronșic.

Sander și alții au reușit inducerea experimentală de cancere prin aplicare de nitriți și amine secundare, cunoscuții precursori ai nitrozaminelor cancerigene. De altfel alcałoizii, aminele secundare și terțiare, nitrații, nitriții, oxizii de azot (în cantități pînă la 600 μg /țigaretă) din tutun și fumul de tutun, sînt sursa cea mai importantă a N-nitrozaminelor cancerigene volatile și nevolatile.

După un sfert de secol de studii privind identificarea substanțelor toxice și cancerigene conținute în fumul de țigaretete, lista rămîne deschisă, cerîndu-se noi eforturi pentru rezolvarea acestei probleme.

18.5.

Relația dintre fumat și unele localizări ale cancerului

În privința fazei de aerosol au fost efectuate cercetări sistematice în scopul identificării agenților tumorigeni din gudronul de tutun. Utilizîndu-se metodele chimice, clasice, de fracționare a rezultat că numai fracțiunea neutră are acțiune cancerigenă netă. Fracțiunea bazică din care au fost excluși alcałoizii a demonstrat doar o foarte slabă activitate, iar fracțiunea acidă nu s-a dovedit cancerigenă. Totuși, cînd această ultimă fracțiune este combinată cu fracțiunea neutră a gudronului de tutun, această mixtură a determinat apariția de tumori pe pielea șoarecelui.

În tabelul 18.IV. sînt prezentate sintetic substanțele cancerigene, cele cu acțiune favorizantă în apariția tumorilor, substanțele cancerigene, ca și cele necancerigene cu acțiune specifică asupra unor organe.

În clasa substanțelor cancerigene prezente în faza de aerosol se află mai ales HAP și unele hidrocarburi N-heterociclice. Experiențele prin fracționare evidențiază faptul că prin eliminarea fracțiunii de gudron tabagic cu conținut de HAP (0,6% din greutatea uscată sau MTP uscată) se reduce cu mai bine de 50% activitatea tumorigenă a fracțiunii restante.

Multiplele interacțiuni de natură fizico-chimică ale diversilor compuși ai fumului de tutun, sinergici sau antagoniști (exemplu benzpirenul este inhibat de fenol) fac deosebit de dificilă determinarea acțiunii biologice a componentelor singulare din fum. Prin izolarea artificială a unuia sau a cîtorva componenți ai fumului de țigaretă, se „iese” din complexitatea reacțiilor chimice existente între multiplii componenți (de ordinul miilor) ai fumului de țigaretă, fenomen valabil atunci cînd se studiază oricare alt poluant atmosferic.

De aceea, din punct de vedere metodologic, testarea pentru dovedirea cancerigenității fumului de țigaretă trebuie făcută cu fumul de țigaretă luat în totalitate, nefracționat, sau cel puțin utilizîndu-se condensatul total al fumului.

AGENȚII CANCERIGENI DIN FAZA DE AEROSOL A FUMULUI DE TUTUN

Tipul substanței	Acțiune biologică	Concentrația fumului unei țigăre	Autorii
1. Cancerigeni B			
Benz(a)pirenol	(+++)	10–50 ng	Hoffmann; Wynder
5-Metilcrizenol	(+++)	0,6 ng	Hecht; Hoffmann
Dibenz(a, h)antracenol	(++)	40 ng	Hoffmann; Wynder
Benzo (b) fluorantenol	(++)	30 ng	Hoffmann; Wynder
Benzo (j) fluorantenol	(++)	60 ng	Hoffmann; Wynder
Dibenzo (a, h) pirenol	(++)	prezent	Hoffmann; Wynder
Dibenzo (a, i) pirenol	(++)	prezent	Hoffmann; Wynder
Dibenz (a, j) acridina	(++)	3–10 ng	Hoffmann; Wynder
Indeno (1, 2, 3-cd) pirenol	(+)	4 ng	Hoffmann; Wynder
Benz (a) antracenol	(+)	40–70 ng	Hoffmann; Wynder
Crizenol	(+)	40–60 ng	Hoffmann; Hecht
Metilcrizenol	(+)	18 ng	Hoffmann; Hecht
Metilfluorantenol	(+)	50 ng	
Dibenz (a, c) antracenol	(+)	prezent	Wynder
Dibenz (a, h) acridina	(+)	0,1 ng	Van Duuren
Dibenz (c, g) carbazolul	(+)	0,7 ng	Van Duuren
Benzo (e) fenantrenol	(+)	prezent	Wynder
2. Pro-otori cancerigeni (favorizanți)			
Fenoli volatili		150–500 μg	Wynder
3. Cocancerigeni			
Pirenol		50–200 ng	Wynder
Metilpirenol		30–300 ng	Wynder
Fluorantenol		100–260 ng	Hoffmann
Metilfluorantenol		180 ng	Hoffmann
Benzo (ghi-perilenol)		60 ng	Wynder
Benzo (c) pirenol		30 ng	Wynder
Natfalena		0,3–6,3 μg	Wynder
1-Metilindolul		0,83 μg	Hoffmann
9-Metilcarbazolul		0,14 μg	Hoffmann
4,4'-Diclorstilbenol		1,5 μg	Hoffmann
Catecolul		200–500 μg	Brunnemann; Hecht
4-Alkilcatecolul		10 μg	Brunnemann; Hecht
4. Cancerigeni specifici pentru unele organe			
A. Esofag			
N-Nitrozonornicotina		140 ng	Hoffmann
Nitrozopiperidina		0,9 ng	McCormick
Nitrozopirolidina		1,100 ng	McCormick
B. Plămîn			
Poloniu ²¹⁰		0,03–1,3 P·Ci	Hoffmann; Little; Wynder
Compuși nichelului		0,600 ng	Hoffmann; Westcott
Compuși cadmiului		9–70 ng	Wynder
C. Pancreas			
Nitrozamine		?	

Tipul substanței	Acțiune biologică	Concentrația fumului unei țigarete	Autorii
D. Rinichiul și vezica urinară			
Betanaftilamina		22 ng	Hoffmann
α -Aminofluorenil		prezent	Pailer
α -Aminostilbenul		prezent	Pailer
o-Toluidina		prezent	Pailer
o-Nitrotoluenul		21 μ g	Hoffmann
Di-n-butilnitrozamina		0,3 ng	McCormick

NOTĂ: Activitate biologică puternică = (+++)
 Activitate biologică moderată = (++)
 Activitate biologică slabă = (+)

Din substanțele cu acțiune cancerigenă asupra unor organe „țintă” amintim beta-naftilaminele și alte amine aromate, care prin metabolizare dau naștere cancerelor vezicii urinare.

Dacă NNN induce cancere esofagiene la animalele de experiență, fumatul sau amestecul de tutun constituie pentru om un factor de risc determinant epidemiologic pentru *cancerul cavității bucale și esofagiene*, mai ales când indivizii în cauză sînt și mari consumatori de alcool.

Într-un studiu epidemiologic retrospectiv privind cancerul gastric în Transilvania am arătat riscul crescut al fumatului și al alcoolului în această localizare, asociere care ar putea explica diferențele incidenței și mortalității la bărbați în raport cu femeile suferind de această boală.

Poloniul²¹⁰ este considerat de Little și colaboratori ca agent favorizant tumorigen pentru animalele de experiență.

În privința cancerului pancreasului s-a constatat că la fumătorii de țigarete există un risc crescut, între 30—50%, în raport cu nefumătorii.

Doll a studiat cancerul vezicii urinare la muncitorii de la cuptoarele cu gaz în comparație cu fumatul și expunerea la beta-naftilamină. Concluzia

autorului a fost că beta-naftilamina ar putea fi un factor determinant al creșterii frecvenței cancerului vezical la fumătorii de țigarete. Cercetări ulterioare au confirmat ipotezele lui Doll prin faptul că:

— beta-naftilamina este numai un indicator pentru alte amine aromate din fumul de țigarete;

— o-toluidina și aminele aromate prin substituirea grupei metil pot determina experimental cancere ale vezicii urinare, iar

— fumul de țigarete conține nitrocompuși aromatici care pot să fie reduși *in vivo* în amine aromate.

Într-un studiu epidemiologic pe un lot de 470 de bolnavi cu carcinoame pavimentoase sau cu structură tranzițională ale căilor urinare inferioare, din care peste 90% cancere ale vezicii urinare, Cole și colaboratorii au găsit că circa 35% din aceste cancere sînt

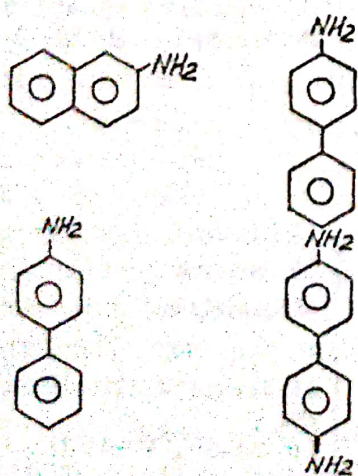


Fig. 18.4. — Substanțele cancerigene ale vezicii urinare la bărbat.

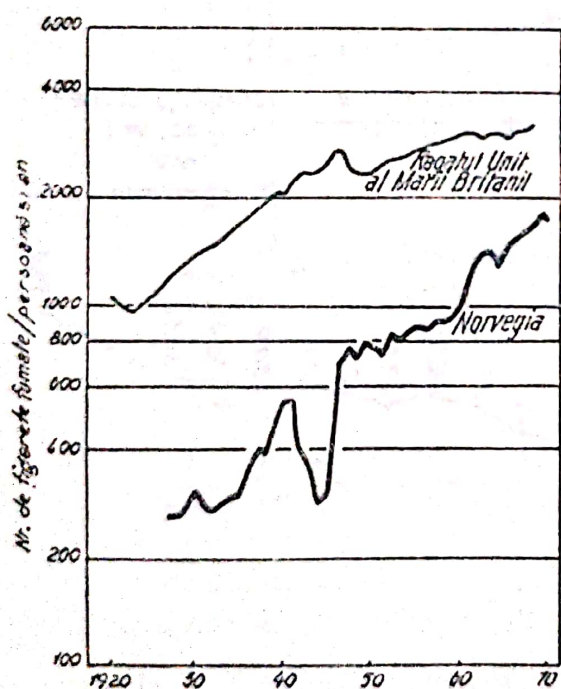
asociate, semnificativ statistic, cu fumul de țigarete. Acest studiu, ca și cele ale lui Dunham și Wynder, sugerează că asocierea cancerului vezicii urinare cu fumatul de trabucuri sau cu utilizarea tutunului, sub formă de priză, dacă nu este absentă total este foarte rară. Citind pe Boyland, Korr și Brown, Cole arată că 2 mecanisme biologice ar putea explica modalitatea creșterii riscului de cancerizare a vezicii urinare prin fumatul de țigarete. Astfel, fumul de țigarete ar induce sau ar potența cancerigenii derivați din metabolismul endogen al triptofanului. Al doilea mecanism posibil (Hoffmann și Wynder) ar consta de data aceasta într-o acțiune specifică directă a substanțelor cancerigene, în speță a beta-naftil-aminei (e drept, în cantități reduse) din fumul de țigarete asupra vezicii urinare.

Hueper arată că și alți cancerigeni au fost detectați în fumul de țigarete, însă nu și în urina fumătorilor.

Dacă admitem ca valabilă asocierea fumatului în proporția amintită (35%) cu cancerul vezicii urinare, extrapolarea acestor date prin generalizare la întreaga populație a S.U.A. ar fi responsabilă pentru circa 3100 de decese pe an prin cancer ale căilor urinare inferioare.

Relația dintre fumat și cancerul cavității bucale a mai fost abordată în cuprinsul acestei lucrări și nu mai revenim asupra ei.

Incidența crescută a cancerului laringian în țările din sud-vestul și sud-estul Europei, ca și din țările latine (Spania, România, Portugalia, Cuba



Sursa: O.M.S. Serie de Rapports techniques nr 636/1979

Fig. 18.5. — Consumul anual de țigarete la adulții peste 15 ani în Norvegia și Regatul Unit al Marii Britanii.

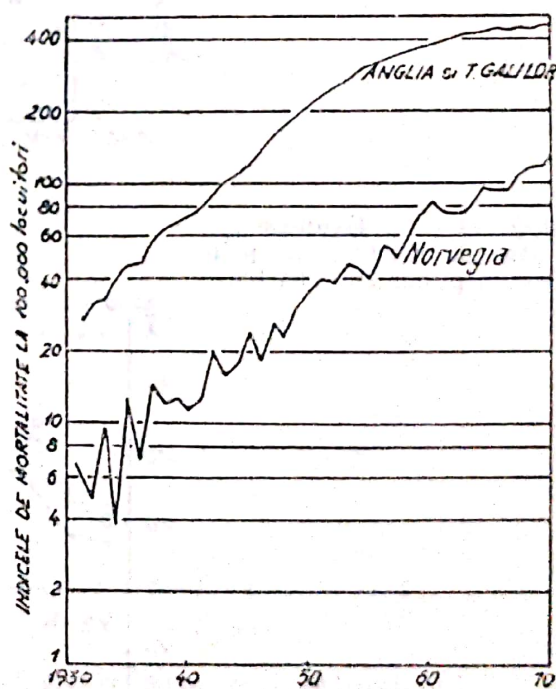


Fig. 18.6. — Indicele anual de mortalitate prin cancer pulmonar la bărbații între 60 și 69 ani în Anglia, Țara Galilor, Norvegia.

etc.) pare să fie corelată epidemiologic cu fumatul de țigarete și consumul de băuturi alcoolice, asociere de două riscuri cancerigene, care ar explica și proporția diferită dintre cele 2 sexe privind această boală. Totuși rolul pe care

Îl au fumatul de țigarete și alcoolul în determinismul cancerului laringelui nu este încă clarificat; incidența cancerului bronho-pulmonar contrastează evident cu incidența cancerului laringian în țările Europei Occidentale, deși ambelor localizări le este atribuit riscul fumatului de țigarete. Dacă în Anglia și Olanda mortalitatea prin cancer bronho-pulmonar este foarte ridicată, în schimb mortalitatea prin cancer laringian este relativ scăzută. În același timp în Italia, Franța, Spania, mortalitatea prin cancer laringian la bărbat este de 3 ori mai ridicată decât mortalitatea prin aceeași localizare în Anglia, iar mortalitatea prin cancer bronhopulmonar este scăzută. Cercetătorii apreciază că aceste diferențe sînt determinate de un consum mai ridicat de alcool sub formă de vinuri sau alte sortimente alcoolice în țările din sudul Europei, comparativ cu consumul de băuturi alcoolice de concentrație alcoolică ridicată

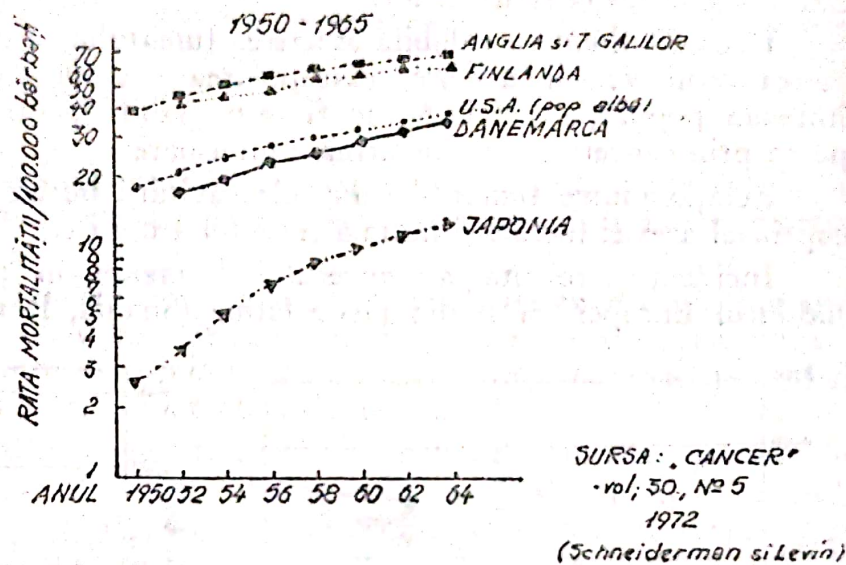
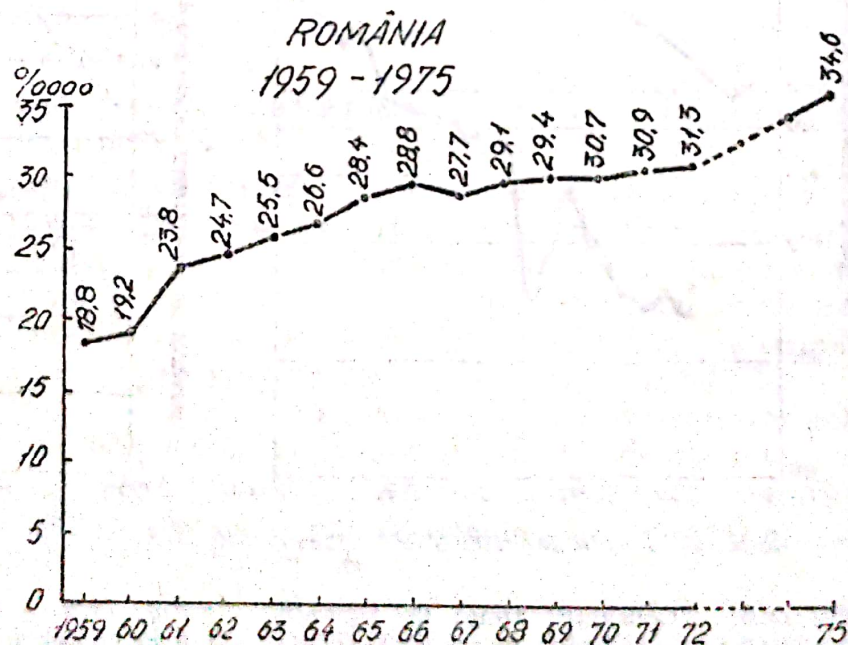


Fig. 18.7. — Evoluția ratelor de mortalitate prin cancer pulmonar la bărbați.



din nordul Europei. În privința fumatului este incriminat tipul de tutun „negru” fumat cu precădere în sud, tutun considerat ca fiind mai cancerigen decât tutunul „blond”, care intră în compoziția țigaretelor din nordul Europei. Un grup de cercetători de la Centrul Internațional de Cercetare a Can-

cerului din Lyon (CIRC) studiază în prezent acești factori de risc în raport cu incidența cancerului laringian, bronhopulmonar și tractului digestiv.

Rezultanta cu dimensiunea cea mai extinsă și tot atât de tragică a impactului fumat-organism este *cancerul pulmonar*. Pe bună dreptate se afirma într-un raport al UICC că „epidemiologia cancerului pulmonar reflectă epidemiologia fumatului (produselor de tutun)”. Ilustrăm această afirmație în fig. 18.5 și 18.6, care demonstrează paralelismul dintre consumul de țigarete a 2 țări cu o rată înaltă a mortalității prin cancer bronho-pulmonar: Marea Britanie și Norvegia. Într-un raport al Comitetului de Experti OMS pentru combaterea fumatului se arată creșterea continuă a producției de tutun și a produselor tabagice, producția de tutun mondială depășind în 1976 recordul de 5,5 milioane tone. Între 1970 și 1976 această producție a crescut cu 20%, de la 3 180 de unități convenționale (unitățile convenționale se exprimă în 100 milioane bucăți țigarete) în 1970, la 3 850 de astfel de unități în 1976.

Creșterea morbidității și mortalității prin cancer bronho-pulmonar este mai marcată la sexul masculin, populație cu procent ridicat de fumători, dar există o tendință netă de creștere a acestor indicatori și pentru sexul feminin, paralel cu creșterea numărului de femei fumătoare.

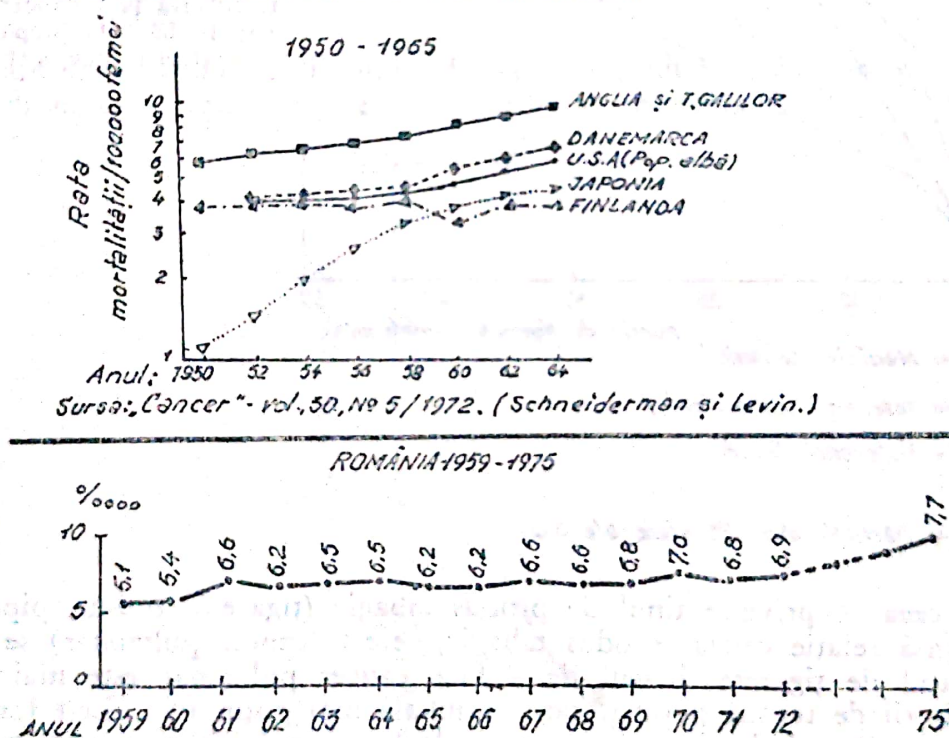


Fig. 18.8. — Evoluția ratelor de mortalitate prin cancer pulmonar la femei.

Dovada relației dintre fumat și cancerul pulmonar la om se bazează pe multiplele cercetări epidemiologice, cercetări întărite de rezultatele cancerizării animalelor de experiență cu ajutorul gudronului de tutun aplicat pe pielea sau mucoasele lor, sau în cadrul modelelor experimentale de inhalare a fumului de țigaretă.

Există un raport cantitativ între rata mortalității prin cancer bronho-pulmonar și numărul de țigarete fumate. Studiile epidemiologice prospective efectuate de Doll la medicii britanici, Best la veteranii canadieni, Kahn la

veteranii SUA și Hammond la populația masculină din 25 de state ale SUA sînt deosebit de elocvente.

Wynder și colaboratorii constată și ei creșterea riscului relativ în cancerul pulmonar în raport cu grupele de fumători și nefumători.

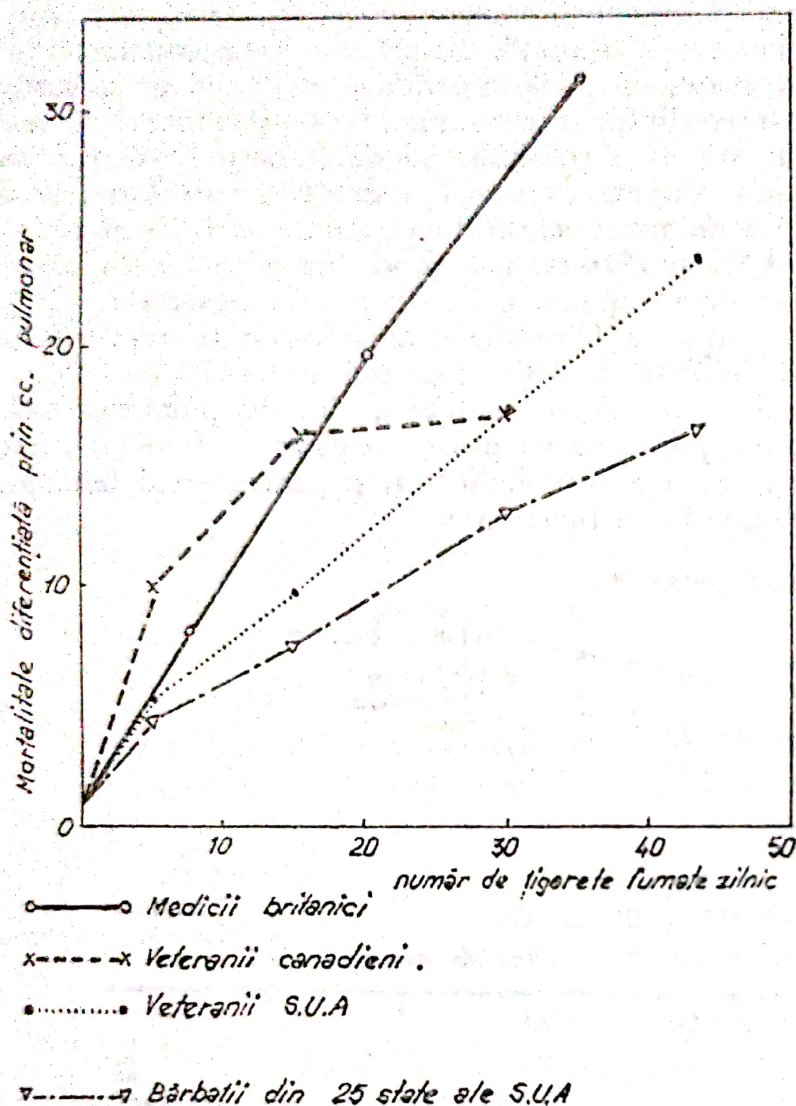


Fig. 18.9. — Mortalitatea diferențiată prin cancer pulmonar la bărbați (după 4 mari studii prospective).

În ceea ce privește tipul de produs tabagic (țigaretă, trabuc, pipă), cea mai strînsă relație cauză (produs tabagic) / efect (cancer pulmonar) se referă la fumatul de țigarete. Riscul de a face cancer pulmonar este mai scăzut la fumătorii de trabuc și pipă, care ar inhala mai puțin fum decît fumătorii de țigarete. Fumul de țigarete este mai alcalin și mai iritant pentru mucoasa bronșică, iar cantitatea de nicotină se absoarbe mai repede prin mucoasa bucală. În sprijinul acestei afirmații vine constatarea nivelului mai scăzut de carboxihemoglobină determinat în sîngele fumătorilor de trabuc și pipă, față de cantitatea mai crescută de COHb din sîngele fumătorilor de țigarete, cu toate că în fumul de trabuc și pipă conținutul de CO este mai mare decît în fumul țigaretelor.

O altă dovadă a relației fumat / cancer bronho-pulmonar este scăderea riscului relativ al persoanelor care au abandonat fumatul. „Experiența medicilor britanici” este deosebit de elocventă: decesele prin cancer pulmonar la

medicii care au abandonat fumatul au scăzut cu 30%, în schimb decesele în cadrul populației generale au crescut cu 70%, pentru aceleași grupe de vîrstă și în aceeași perioadă de timp.

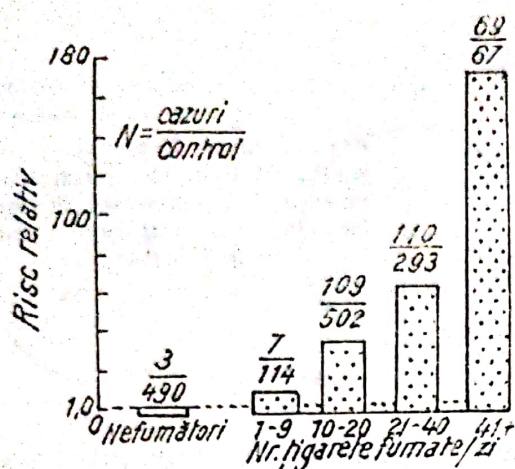


Fig. 18.10. — Riscul relativ în cancerul pulmonar (Kreyberg 1) prin numărul de țigărețe.

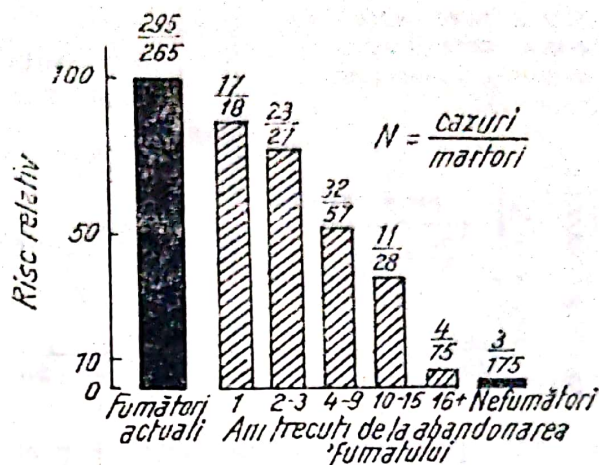


Fig. 18.11. — Riscul relativ în cancerul pulmonar (Kreyberg 1) prin abandonarea fumatului.

Indicele „gudron” al fumului de țigaretă (indice care reflectă cantitatea de gudron/una țigaretă) are o contribuție importantă în cancerogeneza

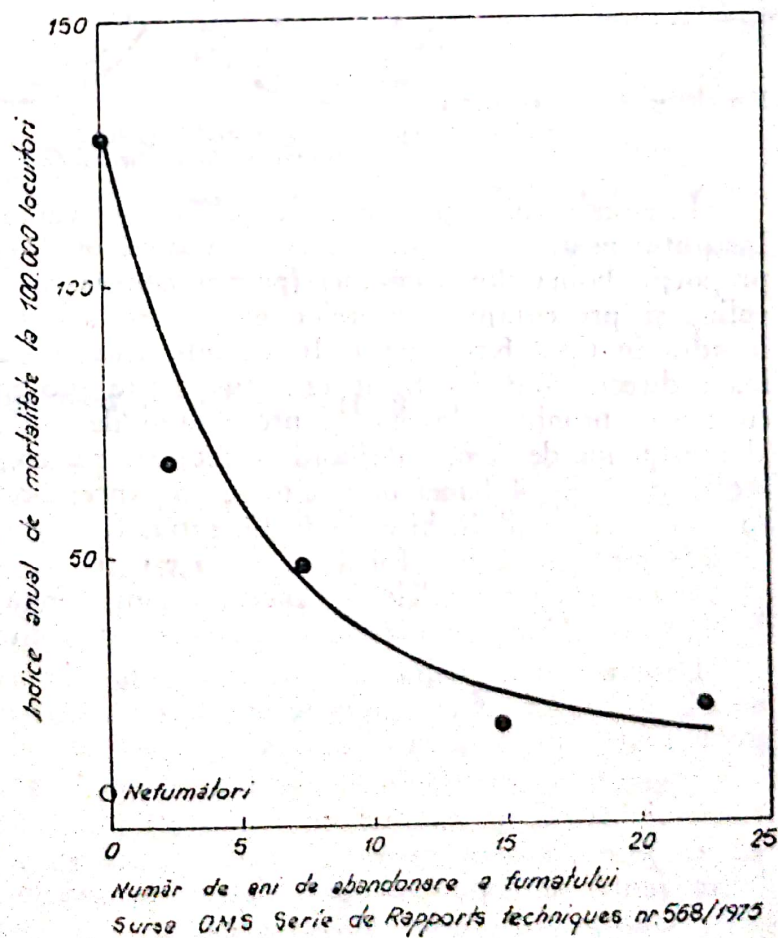


Fig. 18.12. — Indicii comparativi ai mortalității prin cancer pulmonar la fumătorii de țigaretă, foștii fumători și nefumători.

pulmonară, prin riscul mai crescut al fumătorilor de țigaretă fără filtru în raport cu țigaretetele cu filtru, respectiv prin scăderea riscului de îmbolnăvire în mod proporțional cu scăderea gradientului de gudron din țigaretete, scădere

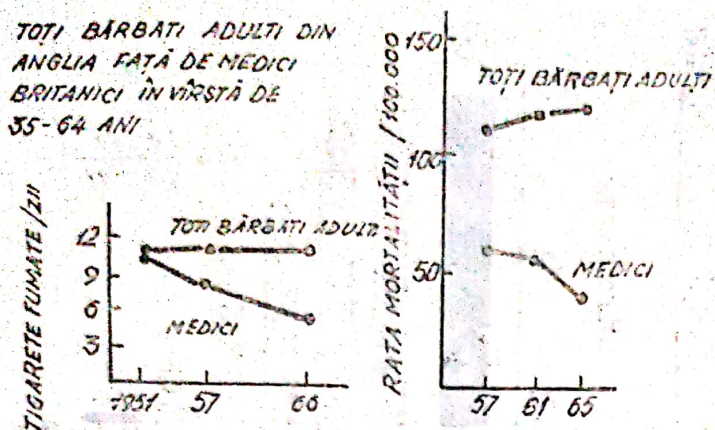


Fig. 18.13. — Fumatul de țigaretete și cancerul pulmonar la adulții de sex masculin din Regatul Unit în raport cu medicii britanici.

realizată prin diverse procedee de prelucrare a tutunului sau prin influența unor aditivi. Acesta este de altfel un deziderat al producătorilor de tutun și de produse tabagice, goana după profit pentru realizarea așa-zisei ȚIGARETE MAI PUȚIN periculoase (TMP) (9).

Un alt element, de această dată de ordin morfologic, îl constituie asocierea (Kreyberg) a unui anumit tip histologic de cancer pulmonar cu fumatul. Autorul citat clasifică cancerule pulmonare în 2 grupe:

Kreyberg I = carcinoame pavimentoase (epidermoide)
 „ cu celule mari și mici
 „ anaplastice

Kreyberg II = adenocarcinoame
 carcinoame cu celule bronhiolo-alveolare
 „ ale glandelor mucoasei bronhice

Într-un studiu epidemiologic privitor la cancerul pulmonar, efectuat în Institutul nostru din acest punct de vedere, am constatat un paralelism între proporția bolnavilor fumători (pentru ambele sexe, ca și pentru sexul masculin) și procentajul cancerelor pulmonare a căror structură histologică se încadra în tipul Kreyberg I. În schimb, această relație nu a putut fi confirmată direct, când s-a făcut raportul dintre procentajul de femei fumătoare cu cancer bronho-pulmonar și procentajul de cancer pulmonare Kreyberg I al acestui lot de femei. Reluând cercetarea, am constatat la o anamneză mai atentă că 3 din 4 femei nefumătoare cu cancer bronho-pulmonar au trăit sau au lucrat în spații închise, unde fie soțul, fie alt aparținător din familie sau tovarăș de muncă era fumător. În acest fel se realizează la scară umană experimentele cu animalele de laborator supuse inhalării involuntare a fumului de țigaretete, având drept rezultat apariția cancerului bronho-pulmonar.

Deoarece mai înainte ne-am referit la pericolul fumatului la locul de muncă, semnalăm câteva aspecte legate de riscul fumatului asociat cu riscul profesional în producerea cancerului.

Bogovski și colaboratorii arată că din cele 2 tipuri de cancer pulmonar (cancerul bronșic și mezoteliomul pleural) induse de azbest, cancerul bronșic rezultă prin acțiunea sinergică a celor 2 agenți etiologici. Efectul combinat dintre fumat și expunerea profesională la azbest s-a dovedit mai mult de ordin multiplicativ decât adițional (8).

Studiind efectele fumatului la minerii de uraniu, Lundin și colaboratorii au constatat că plusul ratei mortalității prin cancer pulmonar la minerii fumători este de 10 ori mai mare decât la minerii nefumători (23).

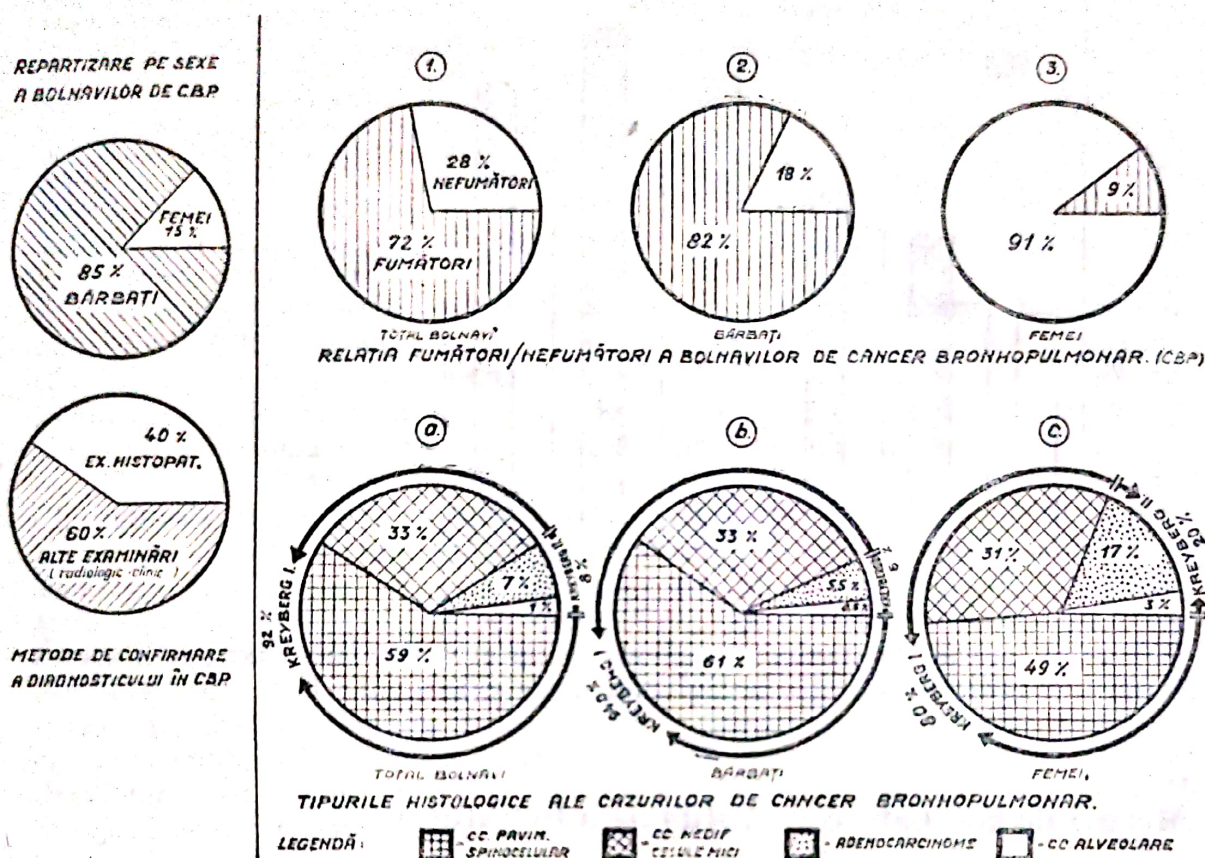


Fig. 18.14. — Aspecte epidemiologice la un lot de 580 de bolnavi internați în perioada 1964–1973 în Inst. Onc. Cluj-Napoca.

18.6.

Fumatul și incapacitatea temporară de muncă

Deși această lucrare tratează în primul rând relația fumat / cancer, amintim totuși faptul că, în conformitate cu multiple studii epidemiologice efectuate în numeroase țări, s-a dovedit că în afară de cancerul pulmonar (și alte localizări ale cancerului) fumatul este considerat un important agent etiologic al bronșitei cronice, emfizemului, cardiopatiilor ischemice, afecțiunilor vasculare periferice obstructive (arterita) etc.

Toate aceste afecțiuni determină o supramortalitate la fumătorii de țigarete, fenomen demonstrat în figurile din text, conform cărora această supramortalitate depinde de numărul de țigarete fumate zilnic, de vârsta la care indivizii au început să fumeze și de modul de inhalare a fumului de țigaretă.

Într-un raport al Ministerului Sănătății din SUA se arată că incapacitatea temporară de muncă prin boală sau accidente este mai crescută la fumători decât la nefumători. Într-un singur an, apreciază raportul, au fost

înregistrate în S.U.A. consecutiv asocierii fumat / boală sau accident 165 de milioane zile-muncă pierdute și 306 milioane zile-muncă cu program redus.

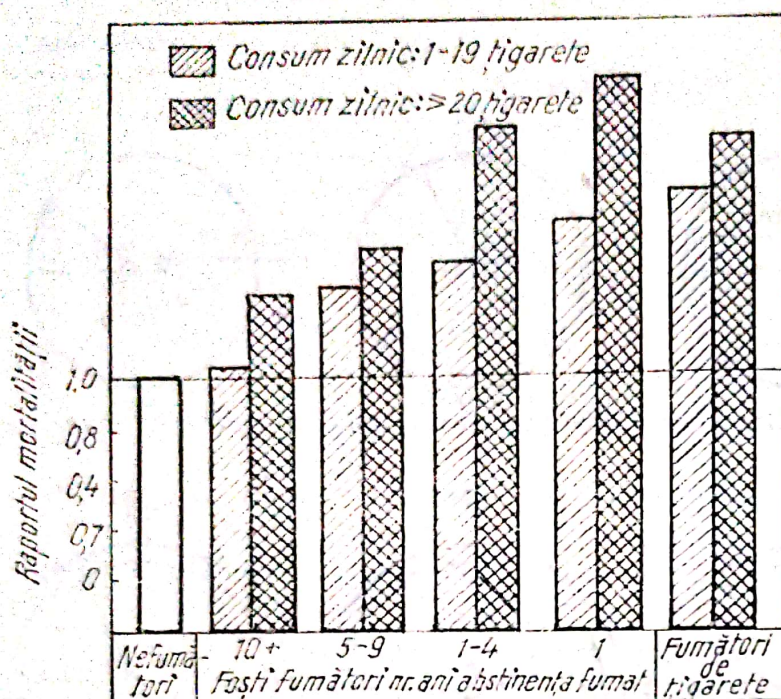


Fig. 18.15. — Raportul mortalității dintre fumători și foștii fumători de țigarete (bărbați).

Toate aceste constatări impun măsuri preventive complexe, pe multiple planuri de ordin medical, psihologic, legislativ și economic.

18.7.

Măsuri de combatere și profilaxie a fumatului

Măsurile de profilaxie primară au drept scop eliminarea totală sau aproape totală a agenților etiologici ai unor boli. Chiar dacă acest deziderat poate fi considerat drept utopie, lupta împotriva tabagismului în particular, ca și lupta împotriva poluării în general, trebuie dusă cu perseverență și îndârjire.

În acest sens sarcina principală este determinarea tineretului să nu fumeze. Or este știut, statisticile demonstrează faptul că un procent important de tineri, începând cu vârsta de 14 ani, sînt fumători. Un studiu întreprins în Anglia printre elevii din școlile secundare a constatat că între 14 și 18 ani băieții fumători sînt în proporție de 27%, iar fetele fumează într-o proporție de 18%. Racoveanu și colab. constată că în România debutul fumatului este semnalat la o vîrstă scăzută, 1/4 din toți fumătorii începînd să fumeze de la vîrsta de 15 ani.

Bineînțeles că este de domeniul utopiei să se oprească peste noapte cultivatul tutunului și să se desființeze industria și comerțul produselor tabagice. De aceea nu trebuie pierdut din vedere în analiza problemei aspectul economic, prin veniturile pe care le aduc statului tutunul și produsele acestuia.

Așa spre pildă în Franța, tutunul contribuie cu 4% la veniturile fiscale ale țării, iar în Anglia cu circa 12%. Într-un studiu al Consiliului Europei se arată că un raport al Colegiului Regal al medicilor din Anglia (1971) a estimat astfel bilanțul financiar aferent utilizării produselor de tutun:

Categoria	Suma. In milioane de lire sterline
Costul importului de tutun	70
Incendii provocate de fumători	10
Pierderi determinate de decese datorite cancerului pulmonar, bronșitei și cardiopatiei ischemice	270
Sume acordate consiliului de cercetări asupra fumatului	1
Sume acordate consiliului de educație sanitară	0,1
Publicitate pentru produsele tabagice	17
Prime diverse	35
Contribuții la venitul statului	1 000

Amintim și faptul că industria tutunului în SUA a cheltuit 300 de milioane dolari pentru publicitate, în timp ce Consiliul Național pentru Sănătate din SUA (National Interagency Council on Health), organism creat în 1964, având sarcini de ordin preventiv și educație sanitară are un buget care reprezintă 2% din suma acordată pentru publicitatea produselor tabagice.

Comitetul OMS de luptă împotriva tabagismului subliniază însă faptul că veniturile realizate prin fiscalitatea asupra tutunului nu pot echilibra pierderile provocate de efectele negative asupra produsului național brut. Se apreciază de asemenea că producția de tutun nu este profitabilă nici pentru țările în curs de dezvoltare, pe termen lung. În întreaga lume, circa 4,5 milioane de hectare sînt cultivate cu tutun, iar această mare suprafață de teren consacrată unei culturi fără valoare nutritivă și care în plus prezintă și un pericol pentru sănătate nu poate constitui o activitate economică rațională, ci mai degrabă o activitate politică comodă. De altfel și țările în curs de dezvoltare sînt atinse de epidemia tabagismului, morbiditatea și mortalitatea atingînd un nivel care constituie deja probleme de sănătate publică și pentru aceste țări.

Acțiunile de educație sanitară adresate tinerilor — elevi, studenți sau militari — chiar dacă nu dau la început rezultate încurajatoare, trebuie continuate cu perseverență, deoarece considerăm că pe termen lung și prin utilizarea de metode corespunzătoare vor avea un impact pozitiv asupra generației tinere.

Pe plan economic și financiar, în vederea limitării acțiunii nocive a tutunului, se impune luarea de măsuri privind:

a. înlocuirea culturilor de tutun prin culturi de produse agricole hrănitoare;

b. controlul tuturor metodelor de promovare a tutunului (interzicerea publicității tuturor produselor de tutun etc.);

c. avertizarea publicului privind nocivitatea tutunului și a produselor acestuia (prin obligativitatea înscrierii pe pachetele de țigarete că tutunul este un produs nociv pentru sănătate și a conținutului de gudron și nicotină a sortimentului de tutun);

d. creșterea progresivă a taxelor pentru produsele tabagice, obligînd ca țigarele cu conținut crescut de nicotină și gudron să fie mai scumpe decît țigarele cu conținut scăzut de nicotină și gudron;

e. restricții privind vînzarea țigaretelor celor în vîrstă sub 15 ani și interzicerea fumatului în localurile publice, la locul de muncă etc.

Profilaxia secundară în epidemiologia fumatului constă în reducerea riscului patogen al acestuia la fumători, în special la adulți cu un „stagiul” lung de fumat, în sensul abandonării fumatului. Această atitudine a fumătorilor de a abandona fumatul are drept rezultat scăderea riscului cancerului pulmonar, în sensul că după 10 ani de la abandonare, acest risc este aproape tot atât de scăzut ca la nefumători. Dovada o constituie „experiența” medicilor britanici care au abandonat fumatul.

Fără îndoială că medicii — dar și restul personalului medico-sanitar: surori, laboranți, infirmiere etc. — au un important rol în lupta împotriva tabagismului și consecințelor acestuia, atât prin educația sanitară perseverentă, inteligent concepută și susținută de mijloace tehnice audio-vizuale corespunzătoare (afișe, tracte, expoziții, filme, emisiuni radiofonice sau de televiziune etc.), cât și prin exemplul personal.

Rezultatele activităților educativ-sanitare vor fi:

- ideale, în cazul când fumătorul va abandona acest obicei, fumatul dovedindu-se că nu este o toxicomanie;
- slabe, când fumătorii de țigarete vor trece de la țigarete la trabuc sau pipă și
- foarte slabe când fumătorul reduce doar numărul țigărilor fumate zilnic.

Abandonarea fumatului, trebuie recunoscut, nu este tocmai ușoară. Mark Twain spunea undeva că „lucrul cel mai ușor pe care l-a făcut vreodată a fost abandonarea fumatului, deoarece a făcut-o de 1 000 de ori”.

În finalul acestei lucrări, nu ne putem declara de acord cu afirmația lui Sartre: „Fumer, c'est une façon d'exister”, ci, mai degrabă cu părerea altora: „Fumer, c'est aussi une façon de mettre la santé (de l'individu et de la collectivité) en danger”.

Bibliografie

- MAUROIS A. — Istoria Angliei, Ed. Politică, București, 1970.
- BAKER R. R. — *Nature*, 1974, 247, 405—406.
- BENJAMIN B. — Tobacco smoking in the world, Rapp. WHO Committee on Smoking Control, 1979.
- BOLBA G., BARA A. — Epidemiological Aspects of Gastric Carcinoma in Transylvania in: 1978 Directory of Directory on-going research in smoking and health, U.S. Dept. HEW. Publ. Health Service, US Gov't Printing Office, Washington, 1977.
- BOLBA G., CHIRICUȚĂ I. — Aspecte de patogenie geografică și epidemiologie a cancerului bronho-pulmonar, Comunicare la Consfătuirea interjudețeană U.S.S.M., Filiala Maramureș, secția pneumologie și fiziologie și Dir. Sanit. Jud. Maramureș, Baia Mare, 12 iunie 1976.
- BOLBA G., CHIRICUȚĂ I. — *Med. Biol. Environm.* 1975, 3, 2, 12.
- BECK F. G., TSO T. C. — Chemical and biological identification of tumorigenic components of tobacco (p. 161—174) — Tumour promoting activity of agriculture chemicals (p. 175—189), in: „Smoking and Health” I. Modifying the risk for smoker; Proc. 3rd World Conf. on Smoking and Health (E. D., Wynder, D. Hoffmann, G. B. Gori, Eds.) U. S. Gov't Printing Office, Washington DC, DHEW Publication No. (NIH) 76—1 221, 1977.
- BOGOVSKI R., GILSON J. C., TIMBRELL V., WAGNER J. C. — Biological effects of asbestos, IARC Scientific Publication No. 8, Lyon — France, 1973.
- CHERRY W. H., FORBES W. C. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1972, 48, 1 765—1 773.
- CHIRICUȚĂ I., BOLBA G. — Elemente de epidemiologie a cancerului bronho-pulmonar: Comunicare la Consfătuirea pe țară, U.S.S.M., Filiala Ilfov, Secția pneumologie și fiziologie și Dir. Sanit. Jud. Ilfov, Balotești, 1974.
- COLE P., MENSON R. R., HANNING H., FRIEDEL G. H. — *New Engl. J. Med.*, 1971, 284, 129—134.

19.

Alcoolul și cancerul

I. CHIRICUȚĂ

Cuprins

- 19.1. Date epidemiologice — 537
- 19.2. Cancerle cavității bucale, faringelui și laringelui — 539
- 19.3. Cancerul esofagului — 542
- 19.4. Cancerul de stomac — 543
- 19.5. Cancerul de colon — 545
- 19.6. Cancerul de ficat — 544
- 19.7. Cancerul pancreasului — 544
- 19.8. Concluzii — 546

Alcoolul, consumat în cantități uriașe în întreaga lume, rezultă atât din procese fermentative naturale (băuturile alcoolice, din fructe sau cereale), cât și din procese de sinteză chimică pentru scopuri industriale. Utilizarea lui este răspândită în cele mai variate domenii de activitate socială, începând cu alimentația și sfârșind cu diferitele ramuri ale tehnicii.

Nu vom discuta aici efectele nocive ale abuzului de alcool asupra organismului, cu patologia aferentă acestei „excesive utilizări” (ciroze, afecțiuni hepatice, cardiovasculare și neuro-psihice). Alcoolismul cronic are largi implicații sociale, motiv pentru care a depășit faza de a fi doar o problemă importantă de sănătate publică.

Era firesc ca epidemiologii să studieze dacă uzul și abuzul de alcool au vreo legătură și cu boala canceroasă. La baza acestui capitol au stat cercetările întreprinse de A. Tuyns (1978), J. Feldman (1975) și alți autori.

19.1.

Date epidemiologice

Vom cita datele epidemiologice culese de A. Tuyns (1978), Nicholls (1974), Hirayama (1975), Monson (1975) și alții (tabelul 19.1), care au studiat grupe de populații, în general bolnavi internați în diferite servicii de medicină internă sau neuro-psihiatrie, care au consumat mari cantități de alcool sub diferite forme (băuturi tari, vin, bere), comparând rezultatele cu grupuri de populații care nu au consumat alcool (diverse secte religioase ca mormonii și alții, care interzic consumul de alcool).

ALCOOL ȘI CANCER - REZULTATE

Autor(i) și data publicației	Tip de populație. Anul de observație	Dimensiunea grupului	Nr. total de decese	Decese prin cancer (toate formele)
Sundby, 1967	Bolnavi tratați pt. alcoolism, Secția de psihiatrie din Oslo, 1925-1962	1 722	Obs. 1 061 Sc. 496,9	204 96,6
Schmidt și De Lint, 1972	Alcoolici tratați Toronto, 1951-1963	6 478	Obs. 738 Sc. 347,23	87* 68,11
Nicholls și colab., 1974	Băutori patologici din 4 spitale pt. boli mintale (Londra), 1953-1967	935	Obs. 309* Sc. 112,7	50** 29,30
Hakulinen și colab.	„Consumatori înrăiți” de alcool în Finlanda (bărbați), 1965-1968	205 000	Obs. Sc.	
	Alcoolici cronici (Helsinki) (bărbați 30 ani +) 1967-1970	4 370	Obs. Sc.	81* 63,3
Hirayama, 1975	Consumatori zilnici de alcool într-o mostră de populație (bărbați), Japonia, 1966-1973	(265 118)	(21 167) SMR	(5 560) 1,07*
Monson și Lyon	Alcoolici cronici admiși în spitale de boli mintale (Massachusetts), 1930-1971	1 382	Obs. 894 Sc.	105 137,3
Lemon și colab., 1964	Advențiști de ziua a 7-a. California, 1955-1959	47 866	Obs. 3 456 Sc. 4 919	608 800
Eustrom, 1975	Mormoni, California (35 ani +) 1970-1972		Obs. 4 036 Sc. 5 439,4	816 1 136,8
Lyon și colab., 1976	raportul mormoni ne-mormoni (bărbați), 1966-70			0,9

Diferențe semnificative:

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Rezultatele au fost comparate și în ceea ce privește procentele de mortalitate prin cancer și cu populațiile considerate „normale”, unde alcoolul a fost consumat cu totul accidental și în cantități mici.

O lipsă a acestor studii este faptul că nu au cercetat și consumul de tutun, deoarece alte cercetări arată riscul crescut al asocierii acestor doi factori.

Din aceste studii (Tuyns A., 1978) rezultă o netă relație între alcoolism și cancerul localizat în: cavitatea bucală, faringe (hipofaringe și orofaringe), laringe, esofag, ficat, plămân și colon. Se pare că băuturile tari (consumul de whisky) ar juca un rol și în geneza cancerelor mediastinului, ale tiroidei, în leucemii și în cancerul pancreasului. Asupra acestor ultime localizări lipsesc statistici, astfel că rămâne deschisă calea pentru cercetări epidemiologice viitoare.

Există de asemenea foarte puține statistici care să arate corelația dintre cancer și profesiunile legate de producția băuturilor alcoolice. Tuyns citează pe Jensen, care înregistrează o creștere a cancerelor de laringe și esofag printre muncitorii din fabricile de bere care consumă berea în mod liber,

TABELUL 19.1

ALE UNOR STUDII PROSPECTIVE (TUYNIS - 1976)

Gură 145	Faringe 149	Laringe 161	Plămîn 162	Esôfag 150	Stomac 151	Colon 153	Rect 154	Ficat 155	Pancreas 157
4** 0,5	9** 0,7	5** 0,6	19** 5,4	40* 3,4	45 36,8	9 6,2	12 4,2	6 3,1	5 3,1
6** 1,75		7** 0,78	30** 14,20	7 1,35	7 8,32	8 6,65			
		20* 11,43			5	4	3	2	1
			200*** 99,2	101*** 59,7		82 86,6		66* 44,3	
3* 0,53	3 2,16	33* 20,17	4* 0,98	6 7,00	3 1,03			2 0,77	4 2,21
3,53*	1,51	1,40	1,28*	1,82	0,97	1,22	0,82	1,22	1,06
13 3,9		6 1,6	19 14,1	5 2,6	15 14,6	11,2	5,7	4 4,2	3 5,1
3 16			39 11	19 50	47 66		97 121	64 63	
22 30,7			145 240,5	12 21,1	40 52,6	79 109,2	27 34	16 19,9	54 62,9
		0,42	0,51	0,42	0,76	6,47			0,99

primind în plus și cote suplimentare. Lipsesc de asemenea statistici care să indice și relația cu modul de alimentare a acestor bolnavi, la care în geneza cancerului este acuzat și alcoolismul. Ar fi foarte interesant de văzut dacă abuzul de alimente, obezitatea sau carența unor principii alimentare proteice (caracteristică pentru categoriile sociale sărace) ar facilita apariția cancerului la alcoolici.

19.2.

Cancerele cavității bucale, faringelui și laringelui

Există numeroase studii care stabilesc faptul că în geneza cancerului cavității bucale, faringelui și laringelui, consumul de alcool joacă un rol semnificativ. Cităm din Tuyns câteva statistici.

La un lot de 543 de bărbați și 116 femei cu cancer ale cavității bucale, Wynder (1976) a constatat că utilizarea (consumul) de tabac și alcooluri tari (whisky) au fost sigur factori cu rol important în geneza cancerului. Se

presupune că în procesul de fabricație a whisky-ului, „îmbătrânirea“ lui prin afumarea cu mangal aprins, ar duce la dizolvarea în alcool a hidrocarburilor cancerigene din fumul de mangal.

Alte studii ale lui Rothman și Keller (1972) asupra relației dintre alcool și fumat în geneza cancerului cavității bucale și laringelui atrage atenția că fumatul poate agrava riscul prin efecte aditive. Calculînd matematic riscurile, ei atrag atenția că la sexul masculin s-ar „putea elimina 76% din cancerul cavității bucale și faringelui, suprimînd folosirea asociată a alcoolului și fumatului“.

Interesante sînt și concluziile la care ajunge Feldman (1975) pe studiul a 150 de cancere cu localizare la cap (cavitate bucală, laringe ș.a.), în comparație cu 319 cazuri (lot martor) de cancere cu alte localizări în alte zone anatomice:

a) băutorii care nu fumează prezintă un risc ceva mai mare decît cei care nu consumă deloc alcool și țigări;

b) fumătorii care nu consumă alcool au un risc de cancerizare (gură-faringe) de 2—4 ori mai mare;

c) marii fumători care consumă masiv și alcool au un risc de cancerizare de 6 pînă la 15 ori mai mare decît cei care nu consumă alcool și nici nu fumează.

Analizînd 167 de cazuri de cancere bucale și 103 cancere gastrice din zona Québec (Canada), Fortier (1975) (citată de Tuyns) constată că toți bolnavii au fost mari consumatori de alcool.

De asemenea, analizînd dosarele a 314 cazuri de cancere laringiene, Wynder (1975) arată convingător că fumatul și consumul de cantități importante de alcool sînt factori evidenți în geneza acestei localizări canceroase. Fumatul rămîne principalul factor de risc, mai ales pentru cancerul glotice și supraglotice, băuturile alcoolice tari măbind apreciabil riscul cancerizării.

Comentînd cercetările lui Wynder, Tuyns face observația că nu s-a putut constata în această statistică creșterea riscului cancerigen prin consumarea băuturilor alcoolice în lipsa fumatului. O relație în plus că asociația fumat + consum de alcool este un factor care crește riscul în geneza cancerului căilor aero-digestive superioare.

Un alt autor (Trieger — 1958) studiază un lot de 108 bolnavi cu cancer al limbii și constată că aproape 50% (48 de cazuri) aveau și ciroză hepatică, 82 de bolnavi fiind mari consumatori de alcool și 97 fumători inveterați. Concluzia lui Trieger este că alcoolul nu ar fi atît de periculos prin excitația asupra mucoaselor, cît prin „terenul sensibilizat“ la cancer pe care-l induce, ciroza fiind un releu în producerea acestei sensibilități. Consecința ar fi că mucoarele la bolnavii hepatici ar deveni mai sensibile la acțiunea cancerigenilor.

Alți autori (Wynder, 1957) consideră că o altă boală care ar induce „terenul sensibilizat“ pentru oncogeneza prin băuturi alcoolice ar fi pentru femei boala Plummer-Vinson. Iată deci argumente că alcoolul ar fi un factor cancerigen și prin dezechilibrul nutrițional provocat de consumarea lui în exces.

Referitor la legătura care există între boala Plummer-Vinson și cancerul laringian, Feldman (1975) citează experiența suedeză. După al II-lea război mondial, guvernul suedez a obligat prin lege ca în făina de grâu să se adauge substanțe bogate în fier și vitamina B₁₂, fapt care a dus la scăderea inciden-

tei sindromului Plummer-Vinson. Consecința a fost și scăderea incidenței cancerului faringian și hipofaringian.

Iată un exemplu grăitor că se pot lua măsuri profilactice eficace împotriva acestor cancere prin „corectarea” terenului, chiar dacă mecanismele bolii nu sînt încă bine elucidate.

Hoberman (citată de Feldman) atrage atenția că, prin vicieri ale metabolismului alcoolului în organism, apare ca substanță intermediară acetaldehida, care are o moleculă foarte reactivă și care ar influența troficitatea celulelor epiteliale. Liber (citată de Feldman, 1975) semnalează că în alcoolismul cronic, din cauze nelămurite încă, există o concentrație crescută de acetaldehidă în sînge.

Rouber de la Mount Sinai Hospital din New York arată că prezența acetaldehidei ar induce modificări în metabolismul mitocondriilor și că probabil influențează și activitatea unor enzime.

Se știe că se poate obține cancer esofagian experimental prin administrare de dinitrozo-piperazină și cancer de colon prin dimetilhidrazidă. Atît Raineri, cît și Fiala au putut intensifica apariția acestor cancere cu ajutorul unor enzime inductoare.

Problema rămîne deschisă, dar există deja indicații că organismul poate fi sensibilizat pentru cancer prin transformări induse de modificări enzimice sau carențe vitaminice. Este posibil ca alcoolul în cantități mari să inducă aceste modificări.

S-a mai emis ipoteza că alcoolul ar sensibiliza organismul la cancer și prin scăderea imunității generale.

Tot în legătură cu ideea „terenului sensibilizat”, pentru cancerul experimental s-a arătat că un regim carentat de riboflavină (vitamina B₂) duce la atrofia, hipercheratoza și hiperplazia pielii șoarecilor, creîndu-se o piele foarte sensibilă la acțiunea substanțelor cancerigene. Alcoolismul cronic induce o carență de riboflavină.

Există autori (Vincent și Marchetta, 1963) care consideră că alcoolul este un factor cocancerigen, facilitînd geneza cancerului prin hidrocarburi nocive din tutun, care pot pătrunde mai ușor în mucoasa bucală sub influența directă a alcoolului, ce servește de solvent.

Cercetările lui Hirayama (1966) asupra apariției cancerului provocat de consumul de „betel”^{*} și cercetările lui Wahi, 1978, asupra consumului de „pan”, produși al căror efect cancerigen este de mult cunoscut, constată că adăugarea consumului de alcool la utilizarea acestor produse, crește incidența cancerelor cavității bucale, care evoluează sub forme foarte grave.

Cităm opiniile lui Kissin (1975) nu fiindcă am fi convinși de exactitatea lor, ci pentru a informa cititorii asupra variatelor opinii existente. Acest autor consideră că produșii cancerigeni din tutun ar juca un rol mai important pentru cancerele vălului palatin, nazo-faringelui, laringelui și plămînilor, în timp ce alcoolul ar juca un rol important în geneza cancerelor mucoasei limbi, planșeului bucal, hipofaringelui și esofagului.

^{*} Betelul este un produs alimentar format din nucă de areca (un soi de palmier), din var și tutun. Betelul și pan-ul se mestecă pentru divertisment, în special de bărbați și se consumă larg în țările Asiei de Sud și mai ales în India.

19.3.

Studiile epidemiologice asupra cancerului esofagului

Studiile epidemiologice asupra esofagului (în special ale lui Wynder și Bross, 1961) arată consumul de alcool (mai ales la fumători), ca pe un factor favorizant pentru apariția cancerului acestui organ. Autorii consideră că pentru esofag alcoolul ar juca un rol mai direct decât în apariția cancerelor cavității bucale.

Riscul este mai mare la marii consumatori de băuturi tari (whisky, coniac), dar riscul există și pentru băutorii de vin și bere.

Este posibil ca alcoolul să fie cancerigen prin efect direct, dar poate juca un rol și prin efect indirect, datorită dereglării nutriționale provocată de alcool, asupra căreia am insistat mai înainte.

Făcînd un studiu epidemiologic la Porto Rico, asupra unui lot de 400 de bolnavi cu cancer de esofag, al cavității bucale și faringelui, comparativ cu un lot de 1 200 de martori de aceeași vîrstă și același sex, Martiner (1970) constată că alcoolul, băuturile fierbinți (cafea, ceaiuri) nu pot fi excluse din factorii favorizanți ai cancerelor de esofag.

Riscul de cancerizare este de 2 pînă la 6 ori mai mare pentru marii consumatori de alcool decât pentru neconsumatori. La cei care fumează masiv, riscul este de 2,5 pînă la de 5 ori mai crescut decât la nefumători.

Concluzia lui Tuyns, care comentează studiile lui Martinez este că „alcoolul și tutunul par să fie factorii cei mai importanți asociați cancerului esofagian și că ar putea să aibă o acțiune independentă unul de altul“.

Rolul alcoolului pare mai important decât cel al tutunului. Chestiunea este controversată, deoarece studiile epidemiologice ale lui Bradshaw (1974) efectuate în Africa de Sud consideră că tutunul este mai important în geneza cancerului esofagian decât alcoolul. Nitrozaminele din tutun solubilizate de alcool ar juca rolul determinant.

Martinez atrage atenția asupra pericolului consumului de rom, mai ales al celui pregătit artizanal, deoarece acesta ar conține pe lîngă alcoolul etilic și alcool metilic, izoamilic, izobutilic, propilic și alte alcooluri grele. Englezii au denumit acest grupaj de alcooluri „fusel oil“ (ulei de fuzel). Alcoolurile de acest tip s-ar găsi în cantități mult mai reduse în romul produs industrial pentru comerț. Graffi a arătat experimental că uleiul de fuzel are proprietăți cancerigene (citată de Feldman, 1975). Și alte alcooluri tari ar putea facilita apariția cancerului esofagian. De exemplu, în regiunea Calvados, din nordul Franței, unde se bea un alcool extrem de tare (peste 80°) extras din fructe, incidența cancerului esofagian este mai crescută.

Un alt exemplu îl oferă China, unde în unele regiuni se consumă o băutură alcoolică foarte tare numită „paikan“, rezultată prin distilarea unei alte băuturi numită „koaliang“, extrasă din planta numită „sorgh“. Wu și Loucks (1951) au găsit că din 172 de bolnavi cu cancer esofagian, 50% erau mari consumatori de paikan.

În zona nordică a Sudanului se consumă alcooluri tari de 80° extrase din curmale (băuturi denumite Aragi și Maressa); cei care au cancer esofagian sînt și băutori cronici ai acestor băuturi.

Tuyns (1977) găsește că fumatul și băuturile tari amplifică riscul de cancer esofagian în comparație cu riscul dat de consumul izolat al acestor produse.

S-a căutat să se găsească factorii chimici din alcooluri care ar induce cancerul. Am expus ipoteza că „uleiurile de fuzel” (alcoolurile grele de fapt) ar juca un rol important.

Alții (Mc Glashan, 1969) consideră că nitrozamina din aceste băuturi ar fi cancerigenul, dar nitrozaminele nu au fost identificate în toate alcoolurile tari.

Analiza cromatografică a acestor băuturi nu a confirmat prezența nitrozaminelor în toate soiurile. De exemplu, Van Rensburg (citată de Tuyns), studiind 18 tipuri de bere preparată din porumb african nu a găsit decât în 3 tipuri prezența nitrozaminelor.

De asemenea, au fost incriminate aflatoxinele din băuturile alcoolice, dar nici acestea nu au fost găsite decât în eșantioane rare.

În concluzie, nu se cunosc exact toate substanțele chimice cancerigene din băuturile alcoolice. Personal înclinăm pentru ipoteza că alcoolul nu ar fi în sine cancerigen, ci ar juca rolul de cocancerigen, favorizând acțiunea cancerigenilor alimentari sau a cancerigenilor existenți în tutun. Considerăm că tulburarea nutrițională determinată de alcoolism este un factor important care ar facilita cancerizarea.

Trebuie specificat că etiologia cancerului esofagian este plurifactorială. Boala se întâlnește frecvent în Iran (anumite regiuni) la populații care nu consumă alcool. La aceștia se acuză monotonia și sărăcia principiilor nutritive din alimentație. Apa (compoziția chimică) ar putea juca un oarecare rol. De asemenea, obiceiul de a bea băuturi fierbinți. Factorii genetici, de asemenea, nu pot fi excluși din geneza cancerului esofagian.

19.4.

Cancerul de stomac

În cancerul de stomac studiile epidemiologice arată că alcoolul nu pare să joace un rol etiologic esențial.

19.5.

Cancerul de colon

În cancerul de colon se pare că fibrele de crysolită provenite din filtrele prin care se purifică berea ar juca un oarecare rol în etiologia acestor cancere. Există câteva statistici (Dean și Mac Lennan) care arată că la marii băutori de bere cancerile colice și rectale sînt de două ori mai frecvente ca la restul populației.

Lipsește alte statistici care să confirme datele prezentate de Dean și Lennan.

19.6.

Cancerul de ficat

Relația alcool-cancer hepatic nu este aceeași pe tot globul. Dacă în Occident cancerul de ficat este rar întâlnit, în Asia, Africa și zone ale Americii latine boala este foarte frecventă. În aceste țări cauza pare să țină de consumarea alimentelor poluate de aflatoxină și de paraziți cu tropism hepatic. În Occident, ciroza hepatică este frecvent asociată cu hepatomul malign.

În cancerul de ficat din Europa, rolul alcoolului pare să fie important; de obicei cancerul primitiv al ficatului este precedat de ciroza hepatică, boală în care consumul de alcool joacă un rol incontestabil.

O statistică a lui Pequignot (1978) arată că în Franța 93% din cirozele departamentului Ille-et-Vilaine sînt în legătură cu marele consum de alcool.

Din tabelul 19.II. întocmit de Tuyns după mai multe statistici, rezultă relația ciroză-cancer.

Se constată că proporția de hepatoame asociate cu o ciroză variază între 60 și 90%. Cancerul hepatic ar apărea, potrivit părerii unor autori (Pequignot, 1967) între 2 și 5 ani după apariția cirozei, timpul de latență putînd să atingă și 8 ani.

Există statistici care arată că hepatomul apare la alcoolici chiar în lipsa cirozei (Tuyns, 1978).

Dacă alcoolul este sigur că joacă un rol important (nu singurul) în geneza cirozei, nu este sigur și rolul de agent cancerigen. Cancerizarea ar putea apărea și ca rezultat al metabolizării în ficat a substanțelor cancerigene provenite din alimente (nitrozamine, aflatoxine, coloranți alimentari, conservanți, substanțe proteice rezultate din alterarea alimentelor, hidrocarburi cancerigene din alimentele conservate prin afumare etc.) într-un ficat sensibilizat prin ciroză sau leziuni hepatice generate de alcool.

Se pare deci că mecanismul de cancerizare este altul pentru ficat decît pentru faringe și esofag.

Corelația dintre ciroza hepatică cronică, virală și neoplazia hepatică nu este bine studiată, cu toate că se înregistrează la autopsii cazuri de coexistență. Rămîne o problemă deschisă studiilor viitoare.

19.7.

Cancerul pancreasului

În ceea ce privește cancerul pancreasului, participarea alcoolului printre factorii etiologici este extrem de confuză. Aceeași confuzie și în ceea ce privește participarea alcoolului la generarea cancerelor de sîn, tiroidă, melanomul malign și prostată. Lipsesc statistici concludente. Semnalăm ipoteza lui Williams (1976), care susține că alcoolul ar stimula formarea hormonilor hipofizei anterioare; prolactina, TSH (hormonul de stimulare a tiroidei) și MSH (hormonul de stimulare a melanocitelor) și de aici incriminarea alcoolului în patogeneza bolilor acestor organe și sisteme. Cercetările prin explorări funcționale ale lui Ylikahri (1976) nu confirmă aceste ipoteze.

CANCER PRIMITIV AL FICATULUI ȘI CIROZĂ - (NECROPSID)

Autori	Anul și locul	Nr. autopsii	Nr. de ciroze	Nr. C.P.F. și Număr hepatome	C.P.F. și ciroza		
					Nr.	în % din nr. ciroze	în % din nr. C.P.F.
Edmonsson H.A., Steiner P.E., 1954 MacDonald R., 1956	1918-1953 Los Angeles	48 900		CPF hepatom	100		89,3
	1917-1954 Boston	23 114	2 402	CPF hepatom	75		
	1919-1955 Londra	17 731	184	CPF hepatom	108	3,0	85,7
Parker R., 1957 Elkington S.G., 1964	1919-1955 Londra	7 336	157	CPF hepatom	53	14,7	84,4
	1940-1962 Londra	8 279	273	CPF hepatom	32		
	1951-1960 Suedia	25 000	466	CPF hepatome	39	12,7	90,9
Miyaji și Ruebne B. H., 1963 Sagebiel R. și colab., 1963 Péquignot H. și colab., 1967	1917-1960 USA	23 275	373	CPF hepatome	20	11,4	
	1896-1960 Massachusetts	2 540	184	CPF hepatom	31		
	1959-1966 Paris	4 032	585	CPF hepatom	72	9,2	67,2
Sakurai M., 1969 Schneiderbauer A., 1972 Portillo G.L., Gottlieb L. S., 1973 Elsner B., Jaurégui M. 1974	1956-1966 Osaka	14 000	1 615	CPF hepatom	43		82,0
	1945-1970 Viena	22 170	805	CPF hepatom	43	9,9	88,1
	1955-1968 Boston	21 565	520	CPF hepatom	75	40,8	83,3
MacSween RNM, 1974 Frey P. și colab., 1975 Miyaji I., Japonia 1976	1905-1967 Buenos Aires	10 211	467	CPF hepatom	76	13,0	89,1
	1900-1969 Glasgow	229 640	16 421	CPF confirmat his- tologic CPF hepatome	78	4,9	79,0
	1969-1973 Zürich	5 355	309	CPF hepatom	45	5,2	77,8
	1959-1971 Japonia	6 642	5 486	CPF hepatome	64		76,6
	1965-1966	5 355	309	CPF hepatom	50		
				CPF hepatom	49		76,6
				CPF hepatom	74	15,8	88,1
				CPF hepatome	3 554	21,6	64,8
				CPF hepatom	132	41,7	84,3

Concluzii

Ce concluzii se pot trage din acest vast material privind relația alcool-cancer? Se pare că alcoolul nu este un cancerigen prin sine însuși, ci pare mai degrabă să fie un factor cocancerigen, facilitând și grăbind apariția cancerelor determinate de alte substanțe cancerigene din mediul ambiant (tutun, alimente, substanțe chimice diferite).

Pentru unele localizări cum ar fi cancerule oro-nazale și esofagiene, relația alcool-cancer pare evidentă. Pericolul apariției cancerului cu aceste localizări crește la marii consumatori de băuturi (în special alcooluri tari) și se accentuează evident la alcoolicii care fumează.

Contează foarte mult natura băuturii alcoolice (whisky, coniac, vodcă, vin, bere) și modul de preparare a băuturilor. Există băuturi alcoolice care conțin în ele substanțe evident cancerigene: nitrozamine, uleiul de fuzel etc. Hidrocarburile cancerigene din tutun pot fi vehiculate de alcoolul îngur-gitat.

În cancerul de ficat relația alcoolism cronic-ciroză hepatică este evidentă.

Există dovezi că alcoolul poate favoriza apariția cancerului și în mod indirect prin tulburările de nutriție pe care le provoacă atunci când este utilizat cronic, creînd o posibilă „sensibilizare pentru cancer” a organismului (în special a structurilor epiteliale). Alcoolismul poate influența cancerogeneza și prin modificarea imunității.

Pentru elucidarea relației alcool-cancer sînt necesare continuarea studiilor epidemiologice, ca și adîncirea studiilor clinice prin metode biochimice. Multe din aceste fapte trebuie să facă obiectul unor temeinice studii experimentale pe animal.

Bibliografie

- BRADSHAW E., SCHONLAND M. — *Britt. J. Cancer*, 1974, 30, 157—163.
 FELDMAN J. — *Cancer Res.*, 1975, 35, 3 343—3 344.
 FLAMANT R., LASSERRE O., LAZĂR PH., LEGUERINAIS J., DENOIX P., SCHWARTZ D. — *J. Nat. Cancer. Inst.*, 1964, 32, 1 309—1 316.
 FORTIER R. A. — *J. Canad. dent. Ass.*, 1975, 44, 235—241.
 HIRAYAMA T. — *Bull. Org. mond. Santé*, 1966, 34, 41—69.
 HIRAYAMA T. — Prospective studies on cancer epidemiology based on census population in Japan, in: Bucalosi, P. „Veronesi, U. and Cascinelli, N. „Proc. XIth Intern Cancer Congress, Florence 1974, Vol. 3, 1975, Cancer Epidemiology-Environmental Factors, p. 26—35.
 KISSIN B. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1975, 252, 374—377.
 LI K. H. KAO, J. GH., WU Y. K. — *Chin. Med. J.*, 1962, 81, 489—494.
 McGLASHAN N. D., WALTERS C. L., McLEAN A. E. M. — *Lancet*, 1968, 2, 1 017.
 McGLASHAN N. D., WALTERS C. L. — *S. Afr. med. J.*, 1969, 43, 800.
 MARTINEZ I. — *Bol. Asoc. Med. P. Rico*, 1970, 62, 170—178.
 MONSON R. R., LYON J. L. — *Cancer*, 1975, 36, 1 077—1 079.
 NICHOLIS P., EDWARDS G., KYLE E. — *Quart J. Stud. Alcohol.*, 1974, 35, 841—855.
 PEQUIGNOT G., TUYNS A. J., BERTA J. L. — *Int. J. Epidem.*, 1978, 113—120.
 ROTHMAN K., KELLER A. — *J. chron. Dis.*, 1972, 25, 711—716.
 TRIEGER N., SHIP I. I., TAYLOR G. W., WEISBERGER D. — *Cancer*, 1958, 11, 357—362.

20.

Influențele hormonale în cancerogeneză

T. H. GAVRILESCU

Cuprins

- 20.1. Importanța influențelor hormonale în biologia cancerului — 548
- 20.2. Integrarea relației hormoni-cancer în fiziologia neuroumorală a organismului — 549
- 20.3. Mecanisme posibile de participare a hormonilor în cancerogeneză — 551
- 20.4. Fapte experimentale privind influența hormonilor în cancerogeneză — 553
 - 20.4.1. Date „clasice” de cancerogeneză hormonală — 553
 - 20.4.2. Riscul cancerigen al hormonilor sexuali — 555
 - 20.4.3. Influența hormonilor asupra culturilor de celule din tumori mamare — 556
- 20.5. Date clinice și epidemiologice în sprijinul relației dintre hormoni și cancer — 558
 - 20.5.1. Semnificația oncologică a ciclurilor anovulatorii — 559
 - 20.5.2. Conversia extraglandulară a androgenilor în estrogeni — 560
 - 20.5.3. Ipoteza estriolului — 561
 - 20.5.4. Efectele inhibitorii ale progesteronului asupra acțiunii carcinogenice a estrogenilor — 562
 - 20.5.5. Efectele de frenare a androgenilor asupra cancerogenezei mamare umane — 562
- 20.6. Teorii privind etiopatogenia hormonală a unor cancere la om — 563
 - 20.6.1. Teoria „ferestrelor de expunere la estrogeni” în cancerogeneza mamară umană — 563
 - 20.6.2. „Descărcările pulsatile” de prolactină în patogenia cancerului mamar — 565
 - 20.6.3. „Ipoteza estrogenilor” în cancerul de endometru — 565
 - 20.6.4. Teoria „ovulației neîntrerupte” în cancerul ovarian — 566
 - 20.6.5. Expunerea intrauterină la dietilstilbestrol (adenocarcinoamele cu celule clare ale vaginului și colului uterin) — 567

20.1.

Importanța influențelor hormonale în biologia cancerului

Unul din capitolele cele mai importante din biologia cancerului este cel al relației sale cu hormonii; importanța este atât teoretică, fiindcă evidențiază multe din mecanismele de control endocrin ale neoplaziei, cât și practică, deoarece fundamentează științific un tratament important în cancer, tratamentul endocrin. Pe baza acestor considerații, putem afirma că acest capitol reliefează semnificația pe care o are legătura strânsă dintre clinician și cer-

cetător, în sensul compatibilității și completării reciproce a celor două preocupări.

De la început subliniem mai multe aspecte care motivează în același timp planul de expunere a problemelor complexe legate de relația hormoni-cancer.

În primul rând, acțiunea hormonilor este numai o latură (e drept, cea mai importantă și mai bine cunoscută) a influențelor mediului asupra cancerului (Mc Kerns, 1974; Sharme și Criss, 1978). De aceea, descrierea succintă a complexității mediului intern permite formarea unei impresii mai exacte a *locului principal, dar limitat* al hormonilor în relația cancerului cu sistemele de reglare funcțională din organism.

În al doilea rând, problema ridicată de relația hormoni-cancer nu este încă rezolvată. Etapa actuală a cunoștințelor este încă o *etapă analitică*, în care datele acumulate sînt jaloane importante, dar nu finale, în drumul spre clarificarea influențelor hormonale în apariția și modificarea evoluției cancerului.

Sistematizarea datelor experimentale care susțin relația dintre hormoni și cancer aduce în obiectiv, în primul rând, hormonii sexuali (în special estrogenii), deoarece aceștia au efecte foarte nete asupra anumitor organe și țesuturi (normale sau tumorale). Aceste țesuturi „țintă” pentru hormoni se modifică atît morfologic, cît și funcțional, sub acțiunea estrogenilor, iar majoritatea cercetărilor s-au bazat pe această proprietate pentru a studia influențele endocrine în cancerogenează.

Marea majoritate a datelor epidemiologice și clinice evidențiază de asemenea relația dintre estrogeni și tumorile maligne cu originea în țesuturi care proliferază și în condiții normale sub acțiunea estrogenilor (sînul și endometrul). Excesul endogen de hormoni este deci exemplificat aproape în exclusivitate de efectele hiperestrogeniei asupra cancerogenezei, iar aportul exogen de estrogeni constituie o temă mult dezbătută în etiopatogenia cancerului de endometru, sîn sau vagin.

În încheierea acestui capitol am selecționat cele mai importante teorii care explică influențele hormonale în etiopatogenia unor cancere la om. Toate aceste teorii privesc cancerele aparatului de reproducere, controlat de un mecanism neuro-endocrin complex, dar în care etajul efector îl constituie tot hormonii ovarieni.

20.2.

Integrarea relației hormoni-cancer în fiziologia neuro-umorală a organismului

În etapa actuală, faptele experimentale, epidemiologice și clinice care vin în sprijinul relației hormoni-cancer sînt furnizate în primul rând de situația simplă a acțiunii hormonilor pe țesuturile „țintă”. Aceste fapte nu trebuie însă să ducă la o „simplificare” a problemei influențelor hormonale asupra cancerului, ci să deschidă orizontul asupra complexului mecanism de control umoral, exercitat în organism. În această lumină, problema hormoni-cancer este subordonată problemei ample de control neuroumoral al neoplaziei, a cărei cercetare este doar la început, deoarece însăși dezvăluirea efectelor funcționale asupra țesuturilor normale se află încă în etapa cercetărilor fundamentale.

O tumoare malignă apare și evoluează în condițiile impuse de mediul intern al organismului „gazdă”. Influența factorilor mediului intern (mai mult sau mai puțin modificat calitativ sau cantitativ) este astfel unul din cele mai concrete aspecte ale relației tumoare-gazdă. Datele acumulate privind autonomia țesutului tumoral sau, din contră, dependența acestuia față de „controlul” exercitat de condițiile de mediu intern (și în particular, față de hormoni) trebuie analizate în contextul *complexității* influențelor neuro-umorale și esenței *rolului* acestora în „economia” hormonală a organismului.

Între mediul înconjurător, foarte variabil în parametrii săi și celula unui organism, care rămâne vitală doar în condițiile unui mediu intracelular foarte constant, se interpune mediul organic intern.

Elementele materiale care adaptează activitatea celulară la condițiile concrete ale existenței în cadrul unității organismului și în relația acestuia cu mediul înconjurător sînt *moleculele informaționale și de control* existente în mediul intern și în primul rînd *hormonii*, al căror rol în biologia cancerului ne-am propus să-l expunem.

Sfera noțiunii de hormon a fost mult lărgită prin cercetările de la începutul deceniului al 6-lea, care au arătat că hormonii adeno-hipofizari, cu rol în reglarea principalelor glande endocrine periferice, sînt dependenți de peptidele secretate de anumite arii hipotalamice.

Aceste peptide cu acțiune de eliberare sau inhibiție a secrețiilor adeno-hipofizei, inițial numite factori, iar apoi hormoni, au complicat schema controlului endocrin. S-a constatat că mecanismul de control este complex, relațiile de feedback făcîndu-se în primul rînd între hormonii circulanți și ariile nervoase de integrare din hipotalamus, modulate de structuri nervoase mai înalte și adaptate factorilor de mediu extern, ca și variațiilor momentane ale mediului intern. Astfel, în accepțiunea modernă a relației hormoni-cancer, trebuie asimilată și influența sistemului nervos, exercitată în primul rînd prin hipotalamus, care reprezintă „homeostatul” funcțiilor endocrine; efectele finale ale influențelor nervoase sînt mediate însă tot de hormoni, deoarece „etajul efector” al mecanismului de control neuro-endocrin este reprezentat de secreția glandelor periferice (estrogenii, androgenii, corticosteroizii etc.) și de unii hormoni polipeptidici hipofizari cu acțiune trofică generală (hormonul de creștere, prolactina etc.).

Cu o metodologie extrem de sensibilă și specifică s-a constatat că astfel de peptide neurosecretate există în tot sistemul nervos central, inclusiv măduva spinării și chiar și alte țesuturi care au provenit în cursul ontogenezei din creasta neurală; eliberate în general în apropierea celulelor pe care le influențează, sînt active doar o foarte scurtă perioadă, după care sînt degradate de enzimele plasmatice.

Aceste peptide specifice, de origine neuronală, numite de Guillemin (1976) „cibernine” și a căror serie începe cu factorii de eliberare hipofizotropi, este completată cu din ce în ce mai multe substanțe izolate și caracterizate recent encefalinele, endorfinele, beta-lipoproteinele, neurotensina, factorul de creștere a fibroblaștilor etc. Acestea constituie un capitol în plină creștere în fiziologia și biologia țesuturilor normale, iar relația acestora cu cancerul este doar bănuită, în prezent fiind doar un proiect pentru cercetarea ulterioară.

Un alt model de încadrare a unei părți din aceste peptide active reunește, sub forma sistemului APUD, țesuturile normale și patologice, ale căror celule sînt capabile să producă „amine prin preluarea și decarboxilarea unor aminoacizi”.

Din această lume, departe de a fi complet descoperită, a *mesagerilor chimici*, a *moleculelor informaționale*, fac parte de asemenea, nucleotizii ciclici: adenzin-monofosfatul ciclic (cAMP), guanozin-monofosfatul ciclic (cGMP) și prostaglandinele, ubicuitari, aflați în toate țesuturile, precum și halonele, inhibitori specifici ai mitozei, într-un anumit țesut, sintetizați chiar de acel țesut sau de țesuturile vecine.

Influența prostaglandinelor asupra procesului malign, amplu cercetată și cu perspectiva unor relații interesante, va fi dezbătută într-un capitol aparte.

Concomitent cu uriașul efort de cercetare a mecanismului de integrare și control neuro-endocrin* au fost căutate și *mecanismele de recunoaștere specifică* în celulă a diferiților mesageri chimici din mediul intern. S-a elucidat astfel, la începutul deceniului al 7-lea, mecanismul de acțiune al hormonilor asupra „receptorilor”. Calitatea de receptor este atribuită unui substrat de legare a mesagerului, caracterizat printr-o foarte mare afinitate și o strictă specificitate, putând decodifica (recunoaște) semnalul mesagerului și declanșa un răspuns celular.

Dar chiar în prezența unui stimul hormonal adecvat și a prezenței receptorilor acestuia, realizarea efectului celular specific presupune parcurgerea unor etape în citosolul și nucleul celulei, care în țesutul tumoral pot fi modificate prin anomalii ale unor componente celulare. Deci în relația tumoare — control endocrin intervin nu numai modificările cantitative și calitative ale hormonilor (modificări care au fost cercetate experimental în primul rând în ceea ce privește hormonii steroizi), ci și capacitatea de răspuns a celulei tumorale la aceste influențe.

Modul de prelucrare și „interpretare” de către celulă a influențelor mediului hormonal depinde de calitatea „universului” suprafeței și interiorului celulei și nu intră în obiectivele acestui capitol. Vom afirma doar că cea mai sumară enumerare a posibilităților de alterare în recepționarea influențelor mediului intern aduce în discuție calitatea funcțională a adenil- și guanil-ciclazei, sistemul proteinkinazelor, eficiența mitocondriilor sau resursele de translație a ARNm. Astfel, numai în ceea ce privește capacitatea de răspuns la diverși stimuli hormonați a adenil-ciclazei din celula tumorilor endocrine** au fost descrise modificări patologice în adenoamele hipofizare (Schorr și colab., 1972; Matsukura și colab., 1977), adenoamele paratiroidiene, feocromocitoame (Schorr și colab., 1972), carcinoamele tiroidiene (De Rubertis și colab., 1972; Evain și colab., 1972), tumorile corticosuprarenale (Hinshaw și Ney, 1974; Saez și colab., 1975; Millington și colab., 1976).

Făcând acest tur de orizont în complexa „anatomie și fiziologie” a mediului neuro-umoral, am încercat să evidențiem faptul că același tip de influențe care se exercită asupra *proceselor normale* de creștere și diferențiere vor acționa și asupra tumorii. Dar relația care se stabilește între influențele hormonale și procesul malign depinde nu numai de *calitatea și cantitatea acestor influențe* (care joacă rolul de factori favorizanți în procesul de cancerogeneză), ci și de *posibilitățile celulei tumorale de a sesiza și răspunde la aceste influențe* (care sînt în parte substratul de interpretare a biologiei atît de particulară a diverselor forme de cancer).

20.3.

Mecanisme posibile de participare a hormonilor în cancerogeneză

Hormonii sînt implicați în cancerogeneză — cel puțin în țesuturile receptoare — prin însuși efectul „trofic” asupra substratului normal (efect

* Numai din 1969, cînd s-a clarificat structura factorului hipotalamic de eliberare a hormonului tireotrop (TRF), au apărut în medicină, fiziologie și chimie 10 000 de publicații privind peptidele hipotalamice (Guillemin, 1976).

** Autorii menționați sînt citați de Saez și colab., 1978.

permisiv) sau anormal (efect teratogen) pe care acționează agenții tumorigeni (chimici, fizici sau virali). Astfel, excesul unor hormoni care au efecte trofice asupra unui țesut normal va avea posibile efecte „de promovare” a procesului de cancerogeneză și de stimulare a creșterii tumorii primare și metastazelor.

Mecanismele posibile de acțiune în sens cancerigen ale hormonilor sînt, potrivit Agenției Internaționale de Cercetare a Cancerului (IARC) de pe lângă OMS (decembrie 1979), următoarele:

- hormonii pot să crească legarea carcinogenilor chimici la constituenții celulari, de exemplu prin influențarea sistemelor de activare metabolică;
- hormonii pot să activeze producția de virus oncogenic (de exemplu virusul tumoral mamar la șoareci);
- hormonii pot fi imunosupresivi și astfel pot să influențeze apariția și creșterea tumorală;
- expunerea la hormoni poate să determine leziuni precanceroase, care constituie un mediu favorabil viabilității unor celule cu potențial de creștere anormal;
- hormonii pot să influențeze rate de progresie a celulelor precanceroase spre celule canceroase;
- hormonii pot să stimuleze preferențial proliferarea populațiilor celulare anormale;
- hormonii pot să stimuleze sinteza de ADN și mitoza, fenomene esențiale în întreținerea stărilor „de transformare” aberante;
- prin stimularea proliferării celulelor normale, cu număr de diviziuni celulare bine definit, hormonii pot să epuizeze cu timpul populațiile celulare normale, eliminînd astfel influența inhibitorie a acestora asupra proliferării celulelor anormale;

— ca un rezultat al dezechilibrului hormonal într-un organ țintă, poate fi favorizată proliferarea față de diferențierea funcțională; în același sens, se poate considera că un anumit mediu hormonal în organele țintă poate să influențeze funcțiile normale (sinteza specifică, secreție) și astfel poate să reducă potențialul tumorigen.

Importanța cercetării sistematice a efectelor hormonilor sexuali în relația cu carcinogeneza este scoasă în evidență de trei aspecte:

a) estradiolul, estrona și estriolul (estrogeni), testosteronul (androgen) și progesteronul (progestativ) sînt prezenți la toate speciile vertebrate fiind produși de ovare, testicule, glandele suprarenale sau placentă. Ei formează o parte din mediul endocrin, fiind integrați în acesta prin interrelații și mecanisme complexe de control. Rolul acestor hormoni în dezvoltare (creștere și diferențiere) este fundamental, iar cantitatea și calitatea modificărilor biologice este direct legată de variațiile absolute și relative ale secreției, metabolizării și acțiunii lor la nivelul receptorilor;

b) hormonii sexuali (între care includem atît produșii naturali, cît și pe cei sintetici, medicamentoși) sînt larg utilizați în medicina umană. Din indicațiile tratamentelor cu hormoni sexuali menționăm: metroragiile functionale, dismenoreea, endometrioza, osteoporoza, tratamentul de substituție în disgenезiile gonadale și în climax (în ginecologie), carcinomul de prostată, hipogonadismele, hermafroditismul și oligospermiiile (la bărbați) etc.;

c) administrarea hormonilor sexuali ca anticoncepționale a cunoscut în ultimii ani o creștere explozivă. Potrivit datelor OMS, în 1972 s-au comer-

cializat 250,6 milioane seturi lunare de anticoncepționale orale, iar în 1977 numărul de „cicluri” infertile, controlate hormonal cu pilule a ajuns la 325 milioane. OMS a apreciat că în 1978 peste 80 milioane de femei utilizau anticoncepționale orale (WHO, 1978).

20.4.

Fapte experimentale privind influența hormonilor în cancerogeneză

Lathrop și Loeb, în 1916, au constatat că ooforectomia împiedică apariția cancerului mamar la șoarecii care făceau spontan tumori mamare. Prin această experiență s-a marcat prima pagină a dosarului voluminos de *fapte experimentale* adunate în timp pentru a dovedi influența hormonilor asupra cancerului la animalele de laborator.

În faza actuală a cunoștințelor se poate sistematiza această muncă uriașă de experimentare în două etape:

— o primă etapă, a realizării unor multiple *modele experimentale*, care urmăreau influența hormonilor asupra incidenței de apariție a cancerului la animalele de laborator cu „tumori spontane” sau cu tumori induse prin carcinogeni chimici;

— etapa actuală, în care se sistematizează materialul acumulat și se trag concluzii privind *riscul cancerigen real* al hormonilor, făcându-se propuneri ale unor *mecanisme de acțiune* a hormonilor în cancerogeneză.

20.4.1.

Date „clasice” de cancerogeneză hormonală

Din prima etapă, a *acumulării* de dovezi experimentale în sprijinul susținerii rolului hormonilor în cancerogeneză trebuie menționate în primul rând studiile lui Lacassagne. În 1932, acesta a indus cancere mamare la toți cei 3 șoareci masculi din rasa R-III luați în experiență, după injectarea săptămînală a 0,6 mg benzoat de estronă timp de peste 5 luni, sau prin administrarea bisăptămînală a 25 μ g dietilstilbestrol (DES). Tot Lacassagne (1939) a demonstrat rolul influenței materne (care ulterior s-a dovedit a fi legată de transmiterea VTM* prin lapte de la mamă la nou-născut), încru-cișînd șoareci din rasa R-III (care aveau o incidență crescută de tumori mamare spontane) cu șoareci din rasa 39 (care nu făceau în mod spontan cancere mamare). Dacă hibrizii masculi erau tratați cu 50 μ g benzoat de estronă, doar la șoarecii ale căror mame erau din rasa R-III (cu incidență mare de tumori mamare spontane) se reușea inducerea de tumori mamare.

Dezlegarea acestei probleme se găsea într-o experiență care a urmat la scurt timp (1941) și în care Bittner a constatat că implantarea subcutanată de estronă (2 mg) determină apariția de tumori mamare la șoarecii din rasa C3H, la care virusul tumoral mamar era evidențiable (VTM⁺) fără să determine acest efect la rasele de șoareci testate, la care VTM era absent (VTM⁻). Dacă reconsiderăm experiențele lui Lacassagne din punctul de vedere al prezenței sau absenței virusului tumoral mamar, constatăm

* VTM — virus tumoral mamar.

că rasa R-III este VTM-pozitivă, în timp ce rasa 39 era VTM-negativă. Aceeași corelație între VTM și succesul inducerii de tumori mamare la șoareci s-a putut constata și în alte experiențe din aceeași perioadă. Astfel, Bonser (1936) a putut să inducă cu estronă tumori la 3 din 21 de șoareci masculi din tulpina A (VTM+), dar la nici unul din cei 40 de șoareci masculi din rasa CBA (VTM-). Prin injectarea săptămînală a 50 μ g estronă timp de 24 de săptămîni, Shimkin și Grady (1940) au obținut tumori mamare la 2 din 10 șoareci masculi din rasa C3H (MTV+), iar la femelele din această rasă (care făceau spontan tumori mamare) a redus durata medie pînă la apariția acestor tumori, de la 46 la 30 de săptămîni.

Această condiție a prezenței VTM la șoarecii la care se reușește inducerea de tumori mamare cu estrogeni este susținută și de experiențele recente. Astfel, Gass și colab. (1974) au studiat acțiunea DES asupra a 50 de șoareci masculi castrați din rasa C3H/An (VTM+), comparativ cu un lot asemănător din rasa C3H/Anf (VTM-). Au luat în considerare loturi identice de control, la care nu s-a administrat DES. Numărul tumorilor mamare apărut la loturile de control, ca și la șoarecii C3H/Anf (VTM-) a fost nesemnificativ 5-10 tumori/lot, în timp ce 36 din cei 50 de șoareci din rasa C3H/An (MTV+) tratați cu DES au făcut adenocarcinoame mamare.

Sub influența DES au putut fi induse, tot la șoareci, și alte tumori decît cele mamare. Experiența lui Highman și colab. (1977) nu evidențiază o relație semnificativă între VTM și apariția sub administrare de DES a unor tumori cu altă localizare decît cea mamară; există totuși o tendință de carcinogeneză mai facilă sub influența dozelor mari de DES la șoarecii cu VTM+. Rezultatele acestei experiențe, făcută pe două loturi comparative de cîte 165 de șoareci femele virgine, pot fi văzute pe tabelul 20.I.

TABELUL 20.I

Localizarea tumorii	Rasa C3H/ HeJ (VTM+)	Rasa C3H FeJ (VTM-)
Glandă mamară	8	0
Col uterin	7	3
Endometru	2	0
Os	2	1
Vagin	0	1

Aceste experiențe scot în evidență rolul *cocarcinogen* al hormonilor estrogeni în cancerogeneza mamară, celălalt factor fiind viral. În aceeași ordine de idei, cităm (Graffi și Bielka, 1962) experiența prin care s-a constatat că acetil-aminofluorenul determină mai ușor tumori hepatice și vezicale la șobolani decît la femeie. Același cancerigen chimic determină apariția de tumori mamare doar la animalele femele, iar dacă aceste animale sînt ovariectomizate, tumorile apar numai după tratament cu dietil-stilbestrol*.

* Pe lângă efectul direct în tumorigeneză, nu se poate neglija faptul că steroizii sexuali sînt imunosupresivi (Deschaux și colab., 1980). Acest aspect este evidențiat și de faptul că incidența bolilor autoimune este legată de sex (Roubinian și colab., 1979), iar recent au fost identificați receptori de estradiol în timus (Grossmann și colab., 1979).

Influența hormonilor hipofizari și suprarenali în cancerogeneză este evidențiată de asemenea de fapte experimentale (Graffi și Bielka, 1962):

- *Hipofizectomia* crează condiții nefavorabile inducerii unei tumori maligne prin factori chimici cancerigeni, iar tumorile de grefă sînt considerabil inhibitate în creșterea lor după hipofizectomie.

- Administrarea în condiții speciale de *hormoni de creștere* determină apariția de limfosarcoame în cutia toracică la șoarece. Acest efect nu mai apare la animalul hipofizectomizat.

- Ovarile sau testiculele implantate în splină degenerază tumoral; explicația acestui fenomen ar putea fi și *hipertonia hipofizară* pe linie gonadotropă, ca urmare a eliberării hormonilor sexuali direct în circuitul portal și metabolizarea lor în ficat. Hormonii sexuali lipsind din circulația sistemică, hipofiza este stimulată prin mecanism feedback negativ, iar excesul de gonadotrofine determină proliferarea atipică a gonadelor ectopice.

- Transplantarea tumorilor de grefă este favorizată prin administrarea de *glucocorticoizi* la animalele gazdă.

- Prin injecție subcutanată de *deoxycorticosteron* s-a obținut la șoareci apariția de sarcoame la locul injectării.

20.4.2.

Riscul cancerigen al hormonilor sexuali

Prezentăm succint concluziile grupului de lucru al Agenției Internaționale de Cercetare a Cancerului (IARC) din cadrul OMS, publicate în decembrie 1979, privind toate datele experimentale referitoare la influența hormonilor sexuali asupra carcinogenezei.

Dietilstibestrolul a fost testat la șoareci și șobolani prin administrarea perorală; la șoareci prin aplicații locale; la șoareci, hamsteri și maimuțe prin implantare subcutanată; la șoareci, hamsteri și cîini prin injecții subcutanate. A fost de asemenea testat ca expunere antepartum la șoareci și hamsteri și ca expunere neonatală la șoareci și șobolani. Administrarea la șoareci determină creșterea incidenței tumorilor mamare și limfoide la ambele sexe, a tumorilor testiculare cu celule interstițiale și a tumorilor ovariene. S-a constatat apariția de tumori de col uterin și vagin la femeie, inclusiv la cele la care expunerea a fost prenatală sau imediat postnatală. La șobolani s-a observat creșterea incidenței tumorilor hipofizare, mamare și de vezică urinară (concomitent cu creșterea litiazei). La hamsteri s-a constatat creșterea incidenței tumorilor renale la femelele și masculii castrați, precum și la masculii intacti. Expunerea prenatală a hamsterilor la DES determină apariția de tumori genitale. La maimuțe s-au observat mezoteliome maligne ale seroasei uterine. Atragem atenția că grupul de lucru al OMS a stabilit că *administrarea de 6 μg de DES/kilocorp/zi este o doză care determină la șoareci o creștere cu semnificație statistică a incidenței cancerelor mamare. Doza administrată la om pentru stăpînirea simptomelor de menopauză este de 10 μg/kilocorp/zi.* La broască, prin administrare de DES se induc tumori ale țesutului hematopoietic.

Etinilestradiolul a fost administrat (peroral) experimental la șoareci, șobolani, cîini și maimuțe. Administrarea la șoareci determină creșterea incidenței tumorilor maligne hipofizare și a cancerelor mamare, precum și a tumorilor maligne ale endometriului și colului uterin. La șobolani crește incidența tumorilor hepatice benigne la masculi, ca și la femele și determină apariția de tumori hepatice maligne la femele.

Administrarea de etinilestradiol în asociere cu progestative induce cancer uterin la șoareci și cancer mamare la șobolanii masculi; la șobolanii

femele această asociere reduce (în comparație cu administrarea doar de etinilestradiol), dar nu previne apariția tumorilor hepatice maligne.

Mestranolul este un derivat de estronă folosit frecvent în compunerea pilulelor anticoncepționale, în asociație cu linestrenol, noretisteron sau acetat de clormadinon. Producția anuală a mestranolului, doar în țările Europei de vest a fost apreciată la un milion de kilograme.

Experimental, mestranolul a fost administrat (singur sau combinat cu progestative) pe cale orală, la șoareci, șobolani, câini și maimuțe. S-a constatat creșterea incidenței cancerelor mamare la unele rase de șoareci (masculi și femele) și șobolani (femele). Administrat în combinație cu noretinodrel, s-au indus tumori hipofizare, vaginale și de col uterin.

17-beta-estradiolul și esterii acestuia au fost administrați experimental la variate animale de laborator. Prin administrarea subcutanată s-a obținut creșterea incidenței unor cancere murine cu foarte variate localizări (glandă mamară, hipofiză, uter, vagin, testicule, ganglioni limfatici). La șobolani s-au indus tumori mamare și hipofizare. La hamsterii masculi și la hamsterii femele ovariectomizate s-au indus cu mare frecvență tumori renale. Nu s-a obținut cancerogeneza renală la hamsterii femele cu ovarele păstrate. Injecțiile subcutanate cu 17-beta-estradiol la șoarecii nou-născuți determină leziuni vaginale și cervicale precanceroase și canceroase și creșterea incidenței tumorilor mamare.

Estriolul determină creșterea incidenței și grăbirea apariției tumorilor mamare la șoarecii masculi și femele, iar la hamster induce tumori renale. Se apreciază că dovezile sînt limitate în susținerea riscului cancerigen experimental al estriolului.

Estrona determină o creștere a incidenței tumorilor mamare la șoareci, iar la șobolani tumori hipofizare, suprarenale și mamare, precum și tumori de vezică urinară; la hamsteri apar tumori renale.

Progesteronul a fost administrat prin injecții subcutanate și intramusculare la șoareci, șobolani și câini. Se apreciază că nu există date suficiente pentru a considera că progesteronul este un cancerigen în condiții experimentale. Aceeași concluzie a fost formulată de IARC și pentru progesteronul de sinteză.

Testosteronul și esterii acestuia determină tumori de col uterin, uneori metastazante la șoareci, iar la șobolani adenocarcinoame metastazante de prostată. Prin administrarea neonatală de testosteron la șoareci femele s-a obținut în mod constant creșterea incidenței tumorilor mamare.

20.4.3.

Influența hormonilor asupra culturilor de celule din tumori mamare*

Hormonodependența tumorilor mamare a fost intens cercetată experimental prin studii *in vivo* și *in vitro* la animale, precum și prin culturi de organ la om. Modelele experimentale cele mai utilizate se referă la 5 situații diferite de culturi de celule: țesutul mamar normal și țesutul mamar displazic la animale și la om; tumorile mamare spontane la șoareci; tumo-

* Autorii menționați în secțiunea 20.4.3. sînt citați din Legros și Heuson (1978).

rile transplantate; tumorile induse cu carcinogeni chimici la șobolani și, în sfârșit, culturile de organ din tumorile mamare umane. S-au urmărit aspectele influenței hormonilor (*in vivo* sau în medii de cultură) asupra principalelor elemente histologice care caracterizează malignitatea: proliferarea nelimitată și tendința spre pierdere a diferențierii (de diferențiere).

Țesutul mamar normal și displaziile mamare. Culturile de celule mamare normale și țesut mamar displazic nu supraviețuiesc în medii de cultură lipsite de cortizol și insulină și nu sunt influențate de estronă, progesteron sau hormonul de creștere.

Tumorile mamare spontane la șoarecii din rasa C3H pot fi obținute prin acțiunea unor virusuri cancerigene, cum ar fi factorul Bittner, transmis prin lapte. Carcinogeneza parcurge două etape succesive:

- formarea de leziuni preneoplazice — noduli alveolari hiperplazici — care sunt *hormonodependente* (Bern și colab., 1958). Culturile de celule din astfel de noduli hiperplazici degenerază dacă la mediul de cultură nu se adaugă cortizol și prolactină. Estronă, progesteronul și hormonul de creștere sunt indiferenți pentru evoluția acestor celule;

- transformarea nodulilor hiperplazici în cancer, care de obicei este autonom față de hormoni (Bern și Nandi, 1961).

Proliferarea nelimitată, apreciată prin sinteza ADN, este influențată de estrogeni în funcție de concentrația lor în mediul de cultură (Turkington și Hilf, 1968): insulina stimulează puternic sinteza ADN; 17-beta-estradiolul în soluție molară corespunzătoare nivelului producției suprarenale inhibă efectul de stimulare a insulinei; 17-beta-estradiolul în soluție molară corespunzătoare nivelului de circulație sangvină a hormonului la femeia adultă *permite insulinei o acțiune maximă de stimulare a sintezei ADN*; 17-beta-estradiolul în soluție molară corespunzătoare nivelului farmacologic inhibă de asemenea efectul de stimulare al insulinei.

Aceste modificări ale acțiunii estrogenilor asupra efectului insulinei privind sinteza ADN sunt datorate mai curând modificării numărului de celule care sintetizează ADN decât creșterii ratei de replicare a celulei.

Tumorile transplantate. Tumoarea R 323 OAC, provenită prin transplantarea unei tumori mamare spontane de la un șobolan din rasa Fisher are aceeași evoluție la șobolanii femele și masculi. Deoarece administrarea de estradiol și prolactină determină însă un răspuns morfologic de tip *secretor foarte intens*, se consideră că această tumoră este *hormonosensibilă*. Asupra celulelor tumorale în cultură, estradiolul și insulina accentuează sinteza ADN și contribuie la diferențierea celulară (Turkington și colab., 1968, 1970).

Tumorile mamare induse cu carcinogeni chimici. Modelul experimental cel mai utilizat este cel al carcinoamelor mamare multiple induse prin administrarea perorală de 7,12-dimetilbenz(a)antracen (DMBA) la șobolanii din rasa Sprague-Dowley (Huggins și colab., 1959).

Creșterea acestor tumori este *net inhibată prin suprimarea hormonilor* care acționează în mod obișnuit asupra glandei mamare sau este *accelerată prin administrarea altor hormoni*. Astfel:

- inhibarea creșterii tumorale este realizată prin ovariectomie și hipofizectomie (Huggins și colab., 1959), diabet zaharat indus cu aloxan (Heuson și Legros, 1972), administrarea de estrogeni (Huggins și colab., 1962) sau *antagoniști hormonal*, cum ar fi bromcriptina sau nafoxidina (DeSombre și Arbogast, 1974 etc.);

- administrarea de insulină (Heuson și colab., 1972), prolactină (Pearson și colab., 1969) și progesteron (Huggins și colab., 1962) determină accelerarea creșterii tumorale.

În culturi de celule provenite din același tip histologic de tumori, au fost descrise două genuri de comportament față de prezența insulinei în mediul de cultură (Heuson și colab., 1967): tumori insulinodependente, în care celulele proliferază activ doar în prezența insulinei și tumori indiferente față de insulină.

Culturile de celule din tumorile mamare umane. Celulele provenite din țesutul mamar normal sau displazic sunt relativ ușor menținute în cultură timp de mai multe zile (Elias și Armstrong, 1973), în timp ce menținerea în cultură a celulelor maligne este foarte dificilă (Selwood și Castro, 1974).

Supraviețuirea în cultură nu este hormonodependentă, dar este mai ușor posibilă la tumorile „moi”, în care țesutul collagen este mai redus și nu „sufocă” componenta neoplazică epitelială: cancerule coloide, intraductale și medulare.

Cancerulele schiroase, cu puternică componentă conjunctivă, nu pot fi menținute în cultură fără dizolvarea collagenului; în acest sens, Eliot și Turner (1953) au descris un factor de înșămânțare („spreading factor”) cu proprietățile unei enzime collagenolitice, în glanda mamară normală, factor dependent de estrogeni, iar Emerson (1953) a constatat dispariția țesutului conjunctiv din cancerulele femeilor tratate cu doze mari de estrogen.

Bazat pe aceste date și altele asemănătoare, Heuson și colab., au descris în 1975 un *sistem colagenolitic dependent de estrogeni*, cu rol important în controlul hormonal al creșterii și diseminării cancerului mamar.

In concluzie, în condiții experimentale și în special *in vitro* influența hormonilor asupra țesutului mamar este evidentă la țesutul normal, este necesară evoluției leziunilor precanceroase la tumorile spontane ale șoarecilor și este obligatorie la tumorile induse cu carcinogeni, care sînt tumori hormonodependente tipice.

În culturile de organ ale tumorilor mamare umane nu s-a putut evidenția o influență hormonală directă, dar s-a descris un sistem enzimatic dependent de estrogeni care influențează proliferarea și diseminarea prin intermediul efectului inhibitor asupra componentei stromale.

20.5.

Date clinice și epidemiologice în sprijinul relației dintre hormoni și cancer

Datele cele mai evocatoare privind influența hormonilor în cancerogeneza umană sînt constatările legate de *creșterea incidenței cancerului de endometru și de sîn la femeile cu exces (endogen sau exogen) de estrogeni*. În organismul femeii, acțiunile estrogenilor asupra țesuturilor țintă se exercită atît direct, prin promovarea creșterii și diferențierii celulare (Lyons și colab., 1958), cît și indirect, prin inhibarea sintezei factorului de inhibiție a prolactinei (PIF) (Robert și colab., 1979). În consecință, are loc stimularea eliberării de prolactină. Hiperprolactinemia indusă de un exces de estrogeni are trei consecințe importante (Meites, 1972): (a) inhibiția activității hipotalamusului și anularea eliberării ciclice a LH-ului; (b) inhibarea acțiunii gonadotrofinelor asupra ovarului; (c) stimularea creșterii țesutului mamar.

Iată cum excesul unui hormon realizează modificări ale secreției altor hormoni, iar relația stabilită cu cancerogeneza este complexă, fiind vorba nu numai de excesul unui hormon, ci de un mediu hormonal modificat. *Dacă la endometru este aparent suficientă acțiunea estrogenilor pentru declanșarea proliferării și antrenarea unor modificări pe filiația spre o tumoare malignă (hiperplazie simplă, hiperplazie glandulo-chistică, hiperplazie adenomatoasă și apoi adenocarcinomul in situ) și apoi a evoluției acestei tumori, evoluția cancerelor mamare la animalele de experiență nu se face în absența hipofizei* (Sterental și colab., 1963). Din contră, prolactina întreține evoluția tumorii mamare, chiar în absența ovarelor și suprarenalelor (Pearson și colab., 1969), dar efectul prolactinei este de scurtă durată (la șobolani 10—12 zile după ovariectomie) dacă nu este susținut de estrogeni (Sinha și colab., 1973).

Se poate vorbi practic în contextul relației hormoni-cancer doar despre excesul de estrogeni, care sînt prin definiție hormoni cu rol proliferativ asupra organelor „țintă”. *Excesul endogen de estrogeni se realizează în mai multe situații clinice (cicluri anovulatorii, obezitate etc.), iar influența lor asupra organelor receptoare depinde de echilibrul general hormonal (tamponamentul progesteronic, acțiunea frenatoare a androgenilor).*

20.5.1.

Semnificația oncologică a ciclurilor anovulatorii

Într-un ciclu menstrual normal (28 de zile), cu ovulația survenind în ziua a 14-a, valorile estrogenilor și progesteronului la începutul ciclului sînt scăzute. Valorile estrogenilor încep să crească începînd din ziua a 7-a, atîngînd un vîrf de secreție în ziua a 13-a. După ovulație există o scădere a valorilor estrogenilor, cu o revenire la un al doilea vîrf în ziua a 21-a și apoi din nou căderea acestor valori înaintea debutului menstruației. Producția de progesteron începe să crească în ziua vîrfului estrogenic preovulator, ajungînd la maximum în ziua a 21-a și scăzînd mult înaintea debutului menstruației. Valori crescute de progesteron se întîlnesc doar după ovulație, iar în timpul ciclului menstrual normal se întîlnesc valori crescute de estrogeni în prezența unei secreții scăzute de progesteron doar timp de 5–6 zile înainte de ovulație. Cu alte cuvinte, doar în 20% din durata ciclului menstrual normal există valori crescute de estrogeni netamponate de progesteron. În general, ciclurile menstruale mai lungi de 28 de zile, se prelungesc pe seama zilelor de la începutul ciclului, aceste zile fiind caracterizate prin valori scăzute ale estrogenilor.

Ciclurile anovulatorii sînt caracterizate prin valori constant scăzute ale progesteronului. Secreția de estrogeni în ciclurile anovulatorii poate să îmbrace două aspecte: unul, valori mai mult sau mai puțin constant crescute ale estrogenilor, menstruația survenind ca un fenomen accidental; celălalt aspect, caracterizat prin valori progresiv crescînde ale estrogenilor către un vîrf asemănător sau mai mare decît al ciclului normal, care însă nu este urmat de o creștere a progesteronului și nici de un al doilea vîrf al valorilor estrogenilor, menstruația survenind ca un fenomen de privațiune. Variațiile steroidogenezei ovariene în cadrul acestui al doilea aspect de ciclu anovulator includ și posibilitatea unei discrete creșteri a nivelului de progesteron după vîrfurile valorilor estrogenilor. Între ciclul normal ovulator și ciclul anovulator franc sînt posibile multe aspecte intermediare, cum ar fi ciclurile cu fază luteală scurtă (Brown și Matthew, 1962). O caracteristică importantă a ciclului ovulator este faptul că menstruația survine consecutiv descreșterii („căderii”) nivelului de progesteron circulant. Chiar în cazurile cu secreție anormal de crescută de estrogeni în timpul fazei luteale, reducerea producției de progesteron întrerupe efectele unei producții crescute și continue de estrogeni. Din contră, menstruațiile care survin în timpul sau după un ciclu anovulator, sînt un fenomen inconstant de multe ori aceste menstruații putînd să lipsească.

În funcție de nivelurile producției de estrogeni și de durata lor, endometrul poate fi stimulat în exces, modificările acestuia depășind aspectele proliferative normale, și îmbrăcînd aspecte de hiperplazie severă, cum ar fi hiperplazia glandulo-chistică.

În mod obișnuit, ciclurile anovulatorii care sînt și cauza cea mai frecventă de metropatie hemoragică, sînt intercalate cu cicluri ovulatorii. Riscul apariției cancerului de endometru ca urmare a unei activități ovariene anovulatorii care să permită dezvoltarea unor arii de proliferare cu filiație spre neoplazie, este esențial legat de *persistența îndelungată a unei stimulări estrogenice a endometrului*, neîntreruptă de descuamarea acestuia ca urmare a unor episoade de creștere și descreștere în producția de progesteron prin evoluția unui corp galben.

Cel mai evident argument epidemiologic privind implicarea ciclurilor anovulatorii în etiopatogenia cancerului de endometru este constatarea nu-

liparității (prin sterilitate anovulatorie), de trei ori mai frecventă (30%) la femeile cu cancer de endometru decât la un grup de femei martor (10%) (Elwood și colab., 1977).

20.5.2.

Conversia extraglandulară a androgenilor în estrogeni

Creșterea cantității totale de estrogeni în organism se poate obține prin creșterea producției extraovariene de estronă provenită din aromatizarea androgenilor produși de suprarenală și ovare (și probabil în cantități mici și de alte țesuturi). Androstendiona se găsește în sângele femeilor în pre- și postmenopauză în cantități de 4 ori mai mari decât testosteronul și este convertită în estronă de 4 ori mai eficient decât conversia testosteronului în 17-beta-estradiol. De aceea, studiile cele mai numeroase se referă la această cale de conversie, androstendionă-estronă, deoarece din punct de vedere epidemiologic situațiile legate de creșterea producției de estronă sînt asociate cu un risc crescut de apariție a cancerului de endometru sau mamar. Acest raționament a impus conceptul lansat de MacDonald și colab., conform căruia creșterea producției extraglandulare de estronă este un factor etiologic în dezvoltarea cancerelor țesuturilor estrogenodependente și în primul rînd al endometrului (Siiteri și colab., 1974).

Din cantitatea totală de estronă existentă în organismul uman, aproximativ 30—40% provin din aromatizarea androstendionei în estronă în țesutul adipos și muscular. Rolul țesutului adipos în conversia androgenilor în estrogeni a fost evidențiat *in vivo* de Nimrod și Ryan (1975) iar MacDonald și colab. (1978) consideră că acesta este o sursă importantă de estronă la femeie.

Creșterea producției de estronă are loc practic în două situații distincte: pe de o parte secreția crescută de androstendionă, pe de altă parte creșterea volumului țesutului adipos. În literatură sînt semnalate anumite condiții clinice care realizează creșterea conversiei periferice a androgenilor în estronă. Astfel, la femeile cu hipertecoză ovariană secreția de androstendionă și testosteron este de 3—8 ori mai mare decât în condiții normale. Aiman și colab. (1978) au constatat la aceste femei și o hiperestrogenie absolută prin conversie în estronă a androstendionei plasmatică excesive.

MacDonald și colab. (1976) au observat la o femeie în postmenopauză cu o tumoră ovariană epitelială (chist-adenocarcinom mucinos asociat cu hiperplazie stromală și hiperplazie de endometru) o secreție de androstendionă de origine tumorală de 5 ori mai mare decât normalul, care a determinat și creșterea de 5 ori a nivelului sangvin al estronei, explicînd prezența hiperplaziei de endometru. De asemenea, la o femeie în postmenopauză cu sindrom de virilizare și cu niveluri crescute de estronă, s-a constatat prezența unor teratoame ovariene benigne cu hiperplazia celulelor stromale, care au determinat niveluri de testosteron de 10 ori mai mari decât în mod normal. În acest caz, aproape întreaga cantitate de estronă și 75% din cantitatea de estradiol au provenit din conversia testosteronului (Aiman și colab., 1977).

Prin insuficiența metabolizării androgenilor în ficat, ciroza hepatică determină niveluri crescute sangvine de androstendionă și creșterea conversiei acestora în estronă și a estronei în estriol.

Vîrsta este un factor important de influențare a ratei de conversie a androstendionei în estronă. Într-un studiu privind 23 de femei între 19 și 73 de ani, cu o greutate corporală normală, s-a constatat că rata de con-

versie a androstendionei a crescut de la 1% la vîrsta de 20 de ani la 3% la vîrsta de 70 de ani (citată de Edman și MacDonald, 1978).

Obezitatea este un factor determinant în influențarea ratei de conversie. Astfel, Edman și MacDonald (1978) au studiat conversia androstendionei plasmatică în estronă la 24 de femei cu cicluri ovulatorii și 31 de femei cu cicluri anovulatorii, a căror greutate corporală a variat între 41 și 159 kg. S-a constatat o corelație foarte semnificativă între rata de conversie și greutatea corporală la ambele grupe de femei. Rata de conversie a crescut de la 0,9% cînd greutatea femeii era de 45 kg, la 1,8% pentru femeile de 90 kg, respectiv 3,6% la femeile de 135 kg. Analizîndu-se comparativ acest aspect la femeile cu cancer de endometru, față de un lot martor de femei avînd aceeași vîrstă și aceeași greutate corporală, s-a evidențiat aceeași corelație privind modificarea ratei de conversie în funcție de vîrstă și greutate (de 2—4 ori mai mare la femeile în postmenopauză, obeze, decît la cele cu greutate normală și de 3—10 ori mai mare ca la femeile cu greutate normală aflate în premenopauză), dar nu s-a putut lega acest aspect de prezența sau absența cancerului de endometru.

20.5.3.

Ipoteza estriolului

Estrona și 17-beta-estradiolul stimulează creșterea uterului la animalele de experiență. Această acțiune este inhibată de estriol (Hisaw și colab., 1954; Huggins și Jensen, 1955), care pe de o parte se leagă competitiv cu estradiolul de receptorii citosolici (Brecher și Wotiz, 1967), iar pe de altă parte determină o reducere marcată a duratei de legare a estradiolului de receptorul nuclear, cu alterarea în consecință a decarboxilării poliaminelor, aspecte esențiale în proliferarea celulară (Lavia și colab., 1981). S-a constatat de asemenea că estriolul are un rol protector față de inducerea cancerului mamar la șobolani prin administrarea de 7,12-dimetilbenz-antracen (Lemon, 1970; Terenius, 1971).

Aceste constatări au determinat enunțarea „ipotezei estriolului”, conform căreia estriolul este un factor de frenare în instalarea acțiunii estrogenice sau un „antiestrogen”, protejînd sînul și uterul împotriva acțiunii carcinogenice a estrogenilor mai puternici — estradiolul și estrona.

Importante studii epidemiologice efectuate de MacMahon și colab. (1973) privind factorii endocrini de risc în apariția cancerului mamar au fost considerate argumente în favoarea ipotezei estriolului. Concluziile acestor studii afirmă că raportul dintre excreția urinară de estriol (E_3) pe de o parte și estradiol plus estronă pe de altă parte este invers proporțional cu riscul de apariție a cancerului mamar; acest raport este semnificativ mai mare ($p < 0,001$) la femeile din Japonia și China, cu incidență scăzută de cancer mamar față de femeile din S.U.A. și Canada, la care incidența cancerului mamar este crescută (MacMahon și colab., 1974). La femeile asiatice emigrate în Hawaii riscul apariției cancerului mamar este moderat și raportul $E_3/E_1 + E_2$ are valori intermediare (Dickinson și colab., 1974), la fel ca la femeile din S.U.A., care au avut o sarcină înaintea vîrstei de 24 de ani (considerate cu risc scăzut), comparativ cu femeile nulipare sau cu cele care au avut prima

naștere la o vîrstă mai înaintată (la care riscul de apariție a cancerului mamar se dublează) (Cole și colab., 1976).

Ipoteza estriolului a fost însă criticată în ultimul timp, pe baza unor studii experimentale care au arătat că efectul frenator sau inhibitor al estriolului se instalează numai cînd estriolul este prezent aproximativ în aceeași concentrație ca estradiolul și estrona. S-a demonstrat că estriolul *liber* este practic absent în plasma femeilor negravidе, concentrația acestuia fiind mai mică de 4—30 pg/ml, comparativ cu 17-beta-estradiolul și estrona, a căror concentrație este de 100—400 pg/ml (Kim și colab., 1974; Raju și colab., 1975; Rotti și colab., 1975). Imediat după formarea estriolului din estronă și estradiol, ficatul conjugă estriolul, care nu mai apare liber în sînge, ci sub forma de estriol-3-glucuronid (în timpul ciclului menstrual) sau estriol-3-sulfat-16-glucuronid (în timpul gravidității) (Raju și colab., 1977).

Interpretarea simplificată a ipotezei estriolului, conform căreia estriolul este „antiestrogen“, a determinat utilizarea largă a acestuia pentru combaterea sindromului de climacteriu. Totuși, cercetări recente efectuate la șobolani, au arătat că în primele 3 ore după administrare estriolul este la fel de activ ca și estradiolul în determinarea răspunsului uterotrofic (Anderson și colab., 1975). Estriolul este totuși un estrogen „slab“, deoarece legarea acestuia de receptorul estrogenic nuclear este mai redusă și mai puțin stabilă, ceea ce face ca acest steroid să se piardă rapid din celulă și deci acțiunea sa să fie de durată mai scurtă. Aceste considerații au determinat grupul de experți O.M.S. și I.A.R.C. (1979) să considere că estriolul „nu este foarte diferit de 17-beta-estradiol“ în ceea ce privește potențialul carcinogenic, atunci cînd sînt utilizate doze farmacologice similare.

20.5.4.

Efectele inhibitorii ale progesteronului asupra acțiunii carcinogenice a estrogenilor

Progesteronul influențează puternic la endometrul uman acțiunea 17-beta-estradiolului prin două efecte principale (Tseng și Gurpide, 1974):

- diminuarea numărului de receptori de estrogeni;
- creșterea activității dehidrogenazei, deci a capacității de inactivare a 17-beta-estradiolului (de fapt, de transformare a acestuia în estronă, mai puțin activă decît estradiolul).

20.5.5.

Efectele de frenare a androgenilor asupra cancerogenezei mamare umane

Lucrările lui Bulbrook și colab. (1964), Marmorston și colab. (1965), Stern și colab. (1964) au scos în evidență diferențe în excreția metaboliților androgenici la bolnavele cu cancer mamar, comparativ cu femeile normale. De asemenea, un studiu prospectiv a evidențiat faptul că la femeile la care va apărea un cancer mamar, excreția 17-cetosteroizilor urinari și în special a etiocolanolonei este mai scăzută decît la femeile care nu vor face un cancer mamar (Hayward, 1970). Poortman și colab. (1973) au interpretat această reducere a excreției metaboliților androgenici ca o consecință

a reducerii ratei de secreție a dehidro-epiandrosteronului și sulfatului său. Lucrările lui Chiricuță, Frenkel, Munteanu (1975, 1978, 1981) au evidențiat că excreția metaboliților androgenilor este cu atât mai scăzută, cu cât evoluția cancerului mamar este mai gravă, respectiv valorile cele mai scăzute de etiocolanolonă au fost constatate în mastita carcinomatoasă.

Toate studiile întreprinse în direcția obiectivării statusului hormonal al bolnavelor cu cancer mamar evidențiază *tendința la o diminuare a nivelului androgenilor la aceste bolnave*, ceea ce s-ar putea interpreta ca fiind o posibilitate de facilitare a efectelor carcinogenetice pe care le au estrogenii (Gavrilescu, 1981).

20.6.

Teorii privind etiopatogenia hormonală a unor cancere la om

Efortul uriaș de cercetare a bolii canceroase a permis elucidarea unor secvențe sau compartimente ale complexei și tulburătoare probleme privind etiopatogenia cancerului. Rolul hormonilor în etiologia unor cancere la om este rezumat la ora actuală sub forma unor teorii sau ipoteze pe care le vom prezenta în continuare.

Au putut fi formulate ipoteze de „etiologie hormonală” doar în cancerle mamare și ale sferei genitale, întrucât considerația teoretică cea mai importantă a acestor ipoteze constă în receptivitatea la hormoni a țesuturilor „țintă” pentru acestea.

20.6.1.

Teoria „ferestrelor de expunere la estrogeni” în cancerogeneza mamară umană

„Forța de intervenție contra cancerului de sân” (Breast Cancer Task Force), reunită la Bethesda în decembrie 1980, a admis teoria „ferestrelor pentru estrogeni” (Korenman, 1980) în explicarea rolului hormonilor steroidi sexuali în etiopatogenia cancerului mamar.

Substratul acestei concepții constă în considerarea estrogenilor ca un factor determinant în cancerogeneza mamară (Mauvais-Jarvis, 1981), agresiunea cancerogenă exercitându-se în condițiile stabilirii unui dezechilibru secretor ovarian între estradiol, factor esențial de multiplicare celulară în țesuturile „țintă” (Gerchenson și colab., 1977) și progesteron, hormonul care se opune multiplicării celulare (Kutenn și colab., 1982). Expresia cea mai obișnuită și frecventă a acestui dezechilibru este insuficiența luteală (defectul de fază luteală, hiperestrogenia relativă), iar elementul care influențează sânul este în primul rând durata expunerii acestuia la condițiile de hiperestrogenie (și abia apoi intensitatea acestei expuneri).

Korenman (1980) își formulează teoria „ferestrei pentru estrogeni” prin următoarele 5 postulate:

— cancerul de sân este indus de un factor carcinogen care acționează într-o glandă mamară zisă „susceptibilă”;

— stimularea estrogenică necompensată (netamponată) de progesteron este starea cea mai favorabilă pentru inducerea cancerului mamar;

— există o lungă perioadă de latență între inducerea cancerului și expresia clinică a acestuia;

— durata expunerii la estrogeni (fereastra de estrogeni) definește riscul de apariție a cancerului mamar;

— posibilitatea inducerii prin estrogeni a unui cancer de sân descrește cu apariția ciclurilor ovulatorii și în special cu survenirea unei prime sarcini care este dusă la termen.

Prima fereastră de expunere la estrogeni corespunde, în linii mari, pubertății, dar debutează o dată cu apariția activității hormonale ovariene, adică la vârsta de 8—10 ani, când nivelul plasmatic al estradiolului și estronei începe să crească o dată cu mugurele mamar (stadiul Tanner II). Apariția menarhei corespunde unui prim ciclu anovulator și până la vârsta de 18 ani ciclurile menstruale rămân de multe ori anovulatorii sau disovulatorii (Döring, 1969). *În consecință, această perioadă de 4—10 ani, când ovarul nu are funcție luteală, este o primă fereastră deschisă influenței estrogenice asupra sînului.*

Această perioadă este dominată de fenomenul de creștere a sînului, care de la 10 celule, cât are la început, ajunge la 20 de milioane de celule în jurul vârstei de 20 de ani; esența acestui fenomen este deci multiplicarea celulară ca urmare a acțiunii estrogenilor. În această perioadă, celulele mamare se găsesc, conform modelului de cancerogeneză mamară „în două stadii” (two-stage model) al lui Moolgavkar și colab. (1980), în trei alternative de evoluție: celule în diviziune, celule diferențiate (care nu se mai divid) și celule zise „intermediare”, *susceptibile la factorii cancerigeni*, care acționând, transformă aceste celule în celule canceroase.

Cu cât proliferarea este mai intensă, cu atât numărul de celule „intermediare” este mai mare; numărul de celule susceptibile la acțiunea cancerigenă depinde deci de gradul de stimulare estrogenică (în primul rînd în ceea ce privește durata).

Exemplificarea extrem de sugestivă a concepției cancerogenezei mamare „în doi timpi” a lui Moolgavkar și colab, și acțiunii primei ferestre de estrogeni, conform teoriei lui Korenman, este oferită de analiza incidenței tumorilor maligne printre supraviețuitorii bombardamentului atomic de la Nagasaki și Hiroshima. Astfel, Tokunaga și colab. (1979) au constatat că incidența cancerului mamar este semnificativ mai mare la bolnavele care în timpul bombardamentului atomic aveau vârsta de 10—14 ani, adică la care glanda mamară era în plin puseu de creștere. Această diferență de incidență a cancerului mamar la expunerea la iradiere în funcție de vîrstă a devenit evidentă după 15 ani de la această expunere. Se poate considera că iradierea a acționat ca un factor cancerigen în special în condițiile oferite de „sensibilizarea” celulelor prin acțiunea estrogenilor netamponați de progesteron, adică atunci când masa celulelor în diviziune este maximă.

Rolul protector al unei sarcini apărută precoce în viața genitală și dusă la termen s-ar putea explica prin faptul că glanda mamară atinge în cursul sarcinii și lăuziei o diferențiere celulară maximă sub influența complexă a estradiolului, progesteronei și prolactinei. Atingerea acestei „finalități” funcționale exclude „accidentul” hiperstimulării estrogenice și tendința la diviziune celulară. Un argument pentru această ipoteză este faptul că la eschimoși fe-

meile fac foarte rar cancer mamar (1,3/100 000 comparativ cu 72,5/100 000, cît este incidența cancerului mamar în SUA). La eschimoși, femeile au de timpuriu primul copil și alăptează 3 ani, astfel încît multe femei ajung să alăpteze de la 17 la 50 de ani. Dacă aceste femei se mută în alte condiții de viață și se reduce numărul de sarcini și perioada de alăptare, incidența cancerului mamar crește (Schaefer, 1969).

Un alt argument ar fi faptul că o primă sarcină dusă la termen la o vîrstă timpurie indică o bună funcție ovulatorie a ovarului și un corp galben de calitate satisfăcătoare și deci o mai scurtă perioadă de „fereastră deschisă la estrogeni“.

A doua fereastră estrogenică este perioada de perimenopauză, caracterizată prin instalarea insuficienței ovariene în primul rînd pe linie progesteronică prin „corp galben inadecvat“ (Sherman și Korenman, 1974) sau cicluri an-ovulatorii. Această perioadă variază între 3 și 10 ani și depinde de posibilitatea prelungirii ei prin administrarea de estrogeni sau minimalizării ei prin administrarea de progestative. În orice caz, o menopauză apărută după 55 de ani antrenează un risc de 3 ori mai mare de cancer mamar decît menopauza apărută la 45 de ani, iar la femeile obeze, în postmenopauză, existînd o sursă extragrandulară de estrogeni, riscul de cancer mamar este mai mare.

20.6.2.

„Descărcările pulsatile“ de prolactină în patogenia cancerului mamar

În condițiile hiperestrogeniei relative prin insuficiență progesteronică, cum se întîmplă în sindromul de „corp galben inadecvat“ are loc o descărcare intermitentă de prolactină în hipofiză, declanșată de condițiile de stres (Nagasawa, 1979). Stresul determină o creștere a secreției de beta-endorfină în sistemul nervos central și aceasta reduce turnover-ul dopaminei din hipotalamus, cu creșterea secreției de TRH, care este un factor de eliberare a prolactinei (Peillon și colab., 1979). Această hiperprolactinemie pulsatilă poate să genereze sau să agraveze tulburări de ovulație și deci de funcție luteală.

Pe de altă parte, o hiperprolactinemie chiar discretă crește de 3 ori numărul receptorilor de estradiol (Coezy și Rochefort, 1980). Progesteronul este un factor de inhibiție a secreției hipofizare de prolactină (Houdebine, citat de Mauvais-Jarvis, 1981), iar insuficiența progesteronică creează ea însăși condițiile unei hiperprolactinemii, închizînd astfel cercul vicios hiperestrogenie — insuficiență progesteronică — hiperprolactinemie — tulburări de ovulație — hiperestrogenie relativă.

20.6.3.

„Ipoteza estrogenilor“ în cancerul de endometru

Conform „ipotezei estrogenilor“, stimularea puternică a endometrului de către estrogeni (în lipsa tamponamentului progesteronic) duce la hiperplazia acestuia și, prin persistența stimulului, antrenează proliferarea endometrului pe filiația spre cancer: hiperplazie glandulochistică, hiperplazie adenomatoasă, adenocarcinom in situ, adenocarcinom invaziv.

În sprijinul acestei ipoteze se pot aduce mai multe argumente:

- incidența crescută a cancerului de endometru la bolnavele la care s-a stabilit diagnosticul de hiperplazie adenomatoasă de endometru (Taylor Jr., 1953; citat de Lucas, 1981) (Gusberg și Kaplan, 1963);

- dezvoltarea cancerului de endometru la animalele tratate cu estrogeni (Meissner, 1957);

- creșterea incidenței hiperplaziei de endometru și a adenocarcinomului la bolnavele cu hiperestrogenie relativă (de exemplu cicluri anovulatorii în cadrul sindromului de ovare polichistice) și la cele cu hiperestrogenie absolută (tumori ovariene funcționale — estrogenosecretante) (Chamlian și Taylor, 1970; Novak și colab., 1971);

- apariția cancerului de endometru la pacientele cu gonade disgenetice, tratate o perioadă îndelungată cu estrogeni (McCarty și colab., 1978);

- progesteronul și tamoxifenul inhibă evoluția hiperplaziei de endometru și a carcinomului bine diferențiat (Gambrell, 1979; Thon și colab., 1979).

O dată cu evidențierea receptorilor de estrogeni s-a putut da o explicație concretă a modului în care estrogenii își exercită efectul proliferativ asupra celulelor endometriale (vezi capitolul „receptorii de hormoni steroizi”). Rolul de „limitare” a stimulării pe care o exercită estrogenii asupra endometrului este jucat de progesteron. Toate aspectele discutate în legătură cu estrogenii în capitolele anterioare se înscriu în susținerea teoretică a ipotezei estrogenilor. Rolul estrogenilor este însă limitat și nu se poate explica printr-o teorie hormonală apariția destul de frecventă a cancerului de endometru la femei care nu utilizează estrogeni, nu sînt obeze, au antecedente obstetricale obișnuite și sînt în toate celelalte privințe sănătoase (Lucas, 1981).

20.6.4.

Teoria „ovulației neîntrerupte” în cancerul ovarian

Implicațiile hormonale în etiopatogenia cancerului ovarian sînt aparent legate de constatarea că *nuliparitatea* este unul din cei doi factori principali de risc pentru această boală*. S-a demonstrat că frecvența cancerului ovarian este net crescută la femeile necăsătorite, comparativ cu cele căsătorite (Weiss și colab., 1977), iar la femeile căsătorite cancerul ovarian este mai frecvent la cele cu paritate scăzută (McGowan și colab., 1979). Aceste date obiective conduc spre două ipoteze privind interesarea ovarului în etiopatogenia cancerului localizat în această regiune.

I. *Existența unei patologii ovariene mai mult sau mai puțin manifestă, care predispune la apariția cancerului ovarian.* Acest ovar „patologic” se trădează prin elementele aduse de situația antecedentelor obstetricale, respectiv insuficiența funcției de reproducere. Smith și colab. (1975) consideră că riscul aportului exogen de estrogeni este minimal față de riscul pentru cancerul de endometru. În orice caz, nu s-a constatat o corelare a incidenței tumorilor ovariene cu punct de plecare în celulele germinale sau în cordoanele sexuale cu statusul marital (Weiss și colab. 1977).

* Al doilea factor de risc îl constituie afecțiunile anxiale în antecedentele personale.

II. Teoria „ovulației neîncetate” datorită absenței sarcinii (utilizării unor mijloace anticoncepționale). „Ovulația neîntreruptă” reprezintă un factor stimulator pentru dezvoltarea cancerului (Newhouse și colab., 1977; Casagrande și colab., 1979). În sprijinul acestei teorii se poate cita studiul lui Beral și colab. (1978), care evidențiază o corelare directă între frecvența cancerului ovarian și parametrii vieții reproductive a femeii.

În concluzie, constatarea epidemiologică privind faptul că o femeie este cu atât mai supusă riscului de a face cancer ovarian, cu cât are mai puțini copii și este mai în vârstă, prin ambele ipoteze care antrenează ovarul în explicarea acestor factori de risc, nu implică veriga endocrină în etiopatogenia cancerului ovarian, iar pentru riscul aportului exogen de estrogeni nu există date semnificative (Thomas, 1978; Berg și Lampe, 1981).

20.6.5.

Expunerea intrauterină la dietilstilbestrol
(adenocarcinoamele cu celule clare
ale vaginului și colului uterin)

În 1971, Herbst și colab. au constatat apariția de adenocarcinoame cu celule clare ale vaginului la fete expuse intrauterin la dietilstilbestrol (DES) adică la fetele ale căror mame au urmat un tratament cu estrogeni de sinteză în cursul sarcinii. După un an, Noller și colab. (1972) au făcut aceeași constatare, dar în legătură cu apariția acestor cancere la colul uterin. Din 1971 s-a înființat un *Registru* al adenocarcinoamelor cu celule clare ale vaginului și colului uterin și a luat naștere Proiectul Cooperativ al Adenozei la Dietilstilbestrol (proiectul DESAD). Până în iunie 1980 s-au înregistrat peste 400 de astfel de cazuri (Herbst, 1981).

Riscul apariției adenocarcinoamelor cu celule clare la femeile expuse intrauterin la estrogeni* este apreciat la 0,14—1,4‰. Incidența acestor cancere a scăzut în ultimii ani datorită faptului că după 1960 nu s-a mai indicat dietilstilbestrol în sarcină. Supraviețuirea globală la 5 ani a acestor bolnave a fost de 80‰, deoarece 58‰ din cazuri au fost surprinse în stadiul I de boală, tocmai datorită unei supravegheri active a grupului de risc. Dacă în arhitectura adenocarcinomului cu celule clare predomină tipul tubulo-chistic (cum se întâmplă la femeile după 19 ani), prognosticul este mai favorabil.

După expunerea *in utero* la DES apar mult mai frecvent anomalii netumorale: adenoza vaginală (prezența de epiteliu glandular și produsul mucinos al acestuia în vagin), ectropion cervical (prezența de epiteliu glandular pe exocervix), metaplazie pavimentoasă în vecinătatea insulelor de epiteliu glandular, hiperplazie microglandulară vaginală (leziuni „în pilulă”), septuri vaginale, deformări ale cavității uterine (hipoplazie, cavitate în formă de T etc.) (Herbst, 1981; Scully și Weich, 1981). De asemenea, s-a comunicat diminuarea fertilității și tulburări menstruale (Herbst și colab., 1980), fapt neconfirmat de alt studiu (Barnes și colab., 1980).

* Alături de gravidele la care s-a administrat DES, au fost înregistrate și gravidele care au fost tratate după anul 1940 cu dienestrol și hexestrol.

- LEGROS N., HEUSON J. G. — Hormone action in Breast Cancer Explants, in: Sharma R. K., Criss W. E., eds, "Endocrine Control in Neoplasia", New York, Raven Press, 1978, p. 169—187.
- LEMON H. M. — *Cancer*, 1970, 25, 423—435.
- LUCAS W. E. — *Cancer* (Suppl.), 48, 1981, 451—454.
- LYONS E. R., LI G. H., JOHNSON R. W. — *Recent Prog. Horm. Res.*, 1958, 14, 219—248 (ab).
- MacDONALD P. G., EDMAN G. D., HUENSEL D. L. ŞI GOLAB. — *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 1978, 130, 448—458.
- MacDONALD P. G., GRODIN J. M., EDMAN G. D. — *Obstel. and Gynec.*, 1976, 47, 644—650.
- MacMAHON B., COLE P., BROWN J. B., AOKI K. ET AL. — *Int. J. Cancer*, 1974, 14, 161—167.
- MacMAHON B., COLE P., BROWN J. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1973, 50, 21—42.
- MAUVAIS-JARVIS P. — *Senologia*, 1981, 6, 137—146.
- MARMORSTON J., GROWLEY L. G., MYERS S. M. ŞI GOLAB. — *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 1965, 92, 447—459.
- McGARTY K. S. Jr., BARTON T. K., PEETE G. H. ET AL. — *Cancer*, 1978, 42, 512—515.
- MacGOWAN L., PARENT L., LEDNAR W. ŞI GOLAB. — *Gynec. Oncol.*, 1979, 7, 325—344.
- MacKERNES K. W. — "Hormones and Cancer", Academic Press, 1978, New York Londra, p. 1—394.
- MEISSNER W. A., SOMMERS S. G., SHERMAN G. — *Cancer*, 1957, 10, 500—503.
- MEITES J. — Relation of prolactin to mammary tumorigenesis and growth in rats. In Boyns A. D., Griffiths K., eds., "Prolactin and Carcinogenesis", Cardiff, Alpha-Omega-Alpha Publ., 1972, p. 56—57.
- MOOLGAVKAR S. H., DAY N. E., STEVENS R. G. — *J. nat. Cancer. Inst.*, 1980, 65, 559—569.
- NAGASAWA H. — *Europ. J. Cancer*, 1979, 15, 267—279.
- NEWHOUSE M. L., PEARSON R. M., FULLERTON J. M. ŞI GOLAB. — *Brit. J. Prev. Soc. Med.*, 1977, 31, 148—153.
- NIMROD A., RYAN K. Y. — *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1975, 40, 367—372.
- NOLLER K. L., DECKER D. G., LANIER A. P. ŞI GOLAB. — *Mayo Clin. Proc.*, 1972, 47, 629.
- NOVAK E. R., KITCHMESKJI J., MUPAS R. S. ŞI GOLAB. — *Obstel. and Gynec.*, 1971, 38, 701—704.
- PEILLON F., VINCENS M., GESSELIN F. ŞI GOLAB. — *Nouv. Presse. Méd.*, 1979, 8, 3 269.
- POORTMAN J., THIJSEN J. H. H., SCHWARZ F. — *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1973, 37, 101—109.
- RAJU U., GANGULY M., LEVITZ M. — *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1977, 45, 429—434.
- RAJU U., GANGULY M., WEISS G. ŞI GOLAB. — *Gynecol. Invest.*, 1975, 6, 356—364.
- ROBERT H. G., PALMER R., BOURY-HEYLER C. ŞI GOLAB. — *Précis de gynécologie*, Paris, Masson et Cie, 1979, p. 90—108.
- ROTTI K., STEVENS J., WATSON D. — *Steroids*, 1975, 1975, 25, 807—816.
- ROUBINIAN J., TALAL N., SIITERI P. ŞI GOLAB. — *Arthr. Rheumat.*, 1979, 22, 1 162—1 168.
- SAEZ J. M., GUY P. T., DAZORD ALICE — Human adrenocortical tumours: alterations in membrane-bound hormone receptors and of cyclic AMP protein kinases, in: Sharma R. K., Criss W. E., eds., "Endocrine Control of Neoplasia", 1978, Raven Press, New York, p. 53—70.
- SCHAEFFER O. — *Canad. Med. Assoc. J.*, 1969, 100, 625—626.
- SCULLY R. E., WELCH W. R. — Pathology of the female genital tract after prenatal exposure to diethylstilbestrol. In: Herbst A. L., Bern H. A., eds., *Developmental Effects of DES in Pregnancy*, Thieme-Stratton, New York, 1981.
- SHARMA R. K., CRISS W. E., (EDS.) — "Endocrine Control in Neoplasia", Raven Press, New York, 1978, p. 1—377.
- SHERMAN B. M., KORENMAN S. G. — *Cancer*, 1974, 33, 1 306—4 311.
- SHIMKIN M. B., GRADY H. G. — *J. nat. Cancer. Inst.*, 1940, 1, 119—128 (ab).
- SIITERI P. K., SCHWARZ B. E., MacDONALD P. G. — *Gynecol. Oncol.*, 1974, 2, 228—238.
- SINHA D., COOPER D., DAO T. L. — *Cancer Res.*, 1973, 33, 411—414.
- SMITH D. C., PRENTICE R., THOMSON D. J. ŞI GOLAB. — *New Engl. J. Med.*, 1975, 293, 1 164—1 167.
- STERENTAL A., DOMINGUEZ J. M., WEISSMAN G. — *Cancer Res.*, 1963, 23, 481—485, (ab).

Controlul creșterii tumorale prin factori produși de tumoarea malignă

I. MUSTEA • T. H. GAVRILESCU

Cuprins

- 21.1. Inhibitori mitotici. Halone (I. Mustea) — 571
- 21.2. Rolul nucleotidelor ciclice în diviziunea celulară și diferențiere (I. Mustea) — 576
- 21.3. Rolul poliaminelor în proliferarea tumorală (I. Mustea) — 580
- 21.4. Prostaglandine și cancer (T. H. Gavrilescu) — 584
 - 21.4.1. Prostaglandinele și inițierea cancerogenezei — 584
 - 21.4.2. Rolul prostaglandinelor în promovarea cancerogenezei — 585
 - 21.4.3. Influența prostaglandinelor asupra proliferării și diferențierii celulare — 586
 - 21.4.4. Prostaglandinele în procesul de metastazare — 588
 - 21.4.5. Prostaglandinele și cancerul mamar uman — 590
 - 21.4.6. Aspecte farmacologice în relația prostaglandine — cancer — 590
 - 21.4.6.1. Utilizarea inhibitorilor de prostaglandine — 590
 - 21.4.6.2. Utilizarea prostaglandinelor sau analogilor de prostaglandine — 591
 - 21.4.7. Rezumat — 591

21.1.

Inhibitori mitotici. Halone.

Controlul creșterii tumorale, problemă fundamentală în biologia cancerului, este încă puțin cunoscută și înțeleasă.

Este unanim admis faptul că celulele canceroase produc și eliberează factori cu ajutorul cărora tumoarea canceroasă îndeplinește creșterea autonomă, invazia și metastazarea. Din aceștia, factorii de stimulare, respectiv de inhibare a creșterii tumorale au fost în mod deosebit studiați în ultimele decenii și rezultatele acestor studii au constituit obiectul a numeroase publicații, monografii și simpozioane.

În ultimul timp, se conturează din ce în ce mai bine ideea că celula canceroasă este rezultatul unei modificări a expresiei genetice din celula normală, fără intervenția unor „evenimente total noi”, cum ar fi integrarea unui genom viral sau a unor gene aberante (Busch, 1976; Sabin, 1981). Caracteristica esențială a unui țesut tumoral ar fi exprimată prin existența unui dezechilibru privind homeostazia celulară, în sensul că se produc mai multe celule decât mor. Cauza acestei stări de dezechilibru s-a apreciat că ar putea



fi determinată de nivelul mai scăzut în celulele canceroase al factorilor de control al creșterii sau de pierderea capacității de răspuns a celulelor maligne la factori inhibitori. Pornind de la asemenea raționamente s-a încercat separarea din țesuturile normale și canceroase a unor factori cu acțiune inhibitoare asupra creșterii. Ideea a apărut deosebit de atractivă și a trezit speranțe pentru o terapie specifică a cancerului, prin care să se restituie celulelor canceroase ceea ce eventual ar fi pierdut, adică factorii inhibitori ai creșterii. În această direcție de orientare s-au îndreptat cercetările lui Bardos și colab. (1968), cercetări care impresionează prin volumul de muncă investit în scopul separării factorilor de reglare a creșterii din țesuturile normale, cu posibilă acțiune inhibitoare asupra creșterii tumorale. Printr-o fracționare sistematică din 28 de țesuturi diferite de bovine și porcine autorii au separat 1 140 de fracțiuni, care au fost testate pe cel puțin două tumori experimentale. A fost semnalată activitatea antitumorală în 14 fracțiuni obținute din pancreas, prostată, timus, hematii, plasmă sangvină și măduvă roșie. Din punct de vedere chimic, factorii inhibitori au fost caracterizați ca fiind proteine, lipide și compuși cu greutate moleculară mică, cu structură neprecizată.

Mulți cercetători au studiat efectul diferitelor extracte tisulare asupra proliferării, în scopul identificării factorilor de control ai diviziunii celulare (Barra și colab., 1979; Beall și colab., 1979; Bonmassar și colab., 1978; Bravo și colab., 1981; Gonzalez și Verly, 1978; Holley 1980; Kapp, 1977; Kilianska, 1981; Kinders și Johnson, 1981; Rothbarth și colab., 1977; Sassier și Bergeron, 1978; Werner și colab., 1973). Majoritatea acestor lucrări au rămas însă sub semnul unor eforturi singulare, datorită mai ales unei purificări insuficiente și a lipsei unei caracterizări fizico-chimice a compuşilor activi care să permită stabilirea structurii lor.

Progrese în această direcție au fost totuși făcute în domeniul unor factori cunoscuți sub denumirea de halone.

Halona este definită ca un inhibitor mitotic sintetizat de un țesut, cu acțiune specifică asupra aceluși țesut; nu are specificitate de specie, nu este toxică și acțiunea este reversibilă (Bullough, 1977). Pentru descoperitorul ei halona ar fi o secreție internă produsă de un țesut în scopul de a stăpâni prin inhibiție activitatea proliferativă a aceluși țesut (Bullough, 1962). Denumirea de halonă a fost adoptată de la cuvântul grecesc *χαλᾶω* care înseamnă a slăbi, a încetini.

Cel mai mult au fost studiate halonele epidermului (Bullough și Mitrani, 1976; Bullough și Laurence, 1978 a), a melanocitelor (Bullough și Laurence, 1978 b; Mohr și colab., 1968), a granulocitelor (Rytömaa și Kiviniemi, 1968, 1969, 1970; Rytömaa și colab., 1976), precum și halonele extrase din celulele diferitelor tumori ascitice (Barford, 1977, 1981, 1982; Barford și Bichel, 1976; Bichel, 1976). Halonele sînt hidrosolubile, precipită cu etanol 70—80% și activitatea lor biologică încetează prin căldură. S-a demonstrat de asemenea că acțiunea halonelor este potențată de adrenalină, glucocorticoizi și tripsină (Bullough și Laurence, 1978; Kraskovskii și Mel'nor, 1982).

În ceea ce privește structura chimică, halonele au fost considerate inițial proteine sau polipeptide, avînd și o componentă glucidică (Thornley și Laurence, 1975). În literatura despre halone se semnalează unele contradicții în privința structurii chimice, ca și a greutății lor moleculare. Bullough și

Laurence (1968) au considerat halona epidermului o glicoproteină cu greutate moleculară 30 000—40 000 daltoni, în timp ce Rytömaa și Kiviniemi (1969) au apreciat că este o polipeptidă cu greutatea moleculară între 2 000—4 000 daltoni. Din lichidul ascitic obținut de la tumorile ascitice JB-1 (plasmocitom hipotetraploid), Bichel (1976) a obținut prin ultrafiltrare două fracțiuni, una conținând substanțe cu greutăți moleculare între 10 000 și 50 000 daltoni, având proprietatea de a inhiba celulele în faza G_1 , iar alta formată din componente cu greutăți moleculare între 1 000 și 10 000, având efect blocant asupra celulelor aflate în faza G_2 a ciclului celular. Barford (1977) a raportat că s-a dovedit că factorii cu acțiune inhibitoare pentru celulele JB-1 aflate în fazele G_1 sau G_2 au greutăți moleculare identice cuprinse între 700 și 1 500 daltoni. Comparând datele apărute pînă în 1980 în diferite lucrări în legătură cu greutățile moleculare ale principalelor halone, Patt și Houck (1980) ajung la concluzia că față de valorile raportate inițial de diferiți autori se constată o „incredibilă micșorare a halonelor“ (tabelul 21.I).

TABELUL 21.I

MASA MOLECULARĂ RELATIVĂ PENTRU UNELE HALONE REPREZENTATIVE
(PATT ȘI HOUCK, 1980)

Originea	Greutatea moleculară (daltoni)	
	Inițială	Actuală
Limfocite	30 000	2 000
	30 000—50 000	500—700
	38 000	2 100
	10 000—30 000	1 400
Granulocite	2 000—3 000	300—700
Tumoare ascitică JB-1	10 000—50 000	500—600
Epiderm	300 000	10 000
Fibroblaști	10 000—50 000	10 000

Această reducere în masa moleculară a halonelor a fost explicată prin proprietatea lor de a forma agregate moleculare de dimensiuni variabile în funcție de tehnica de extracție folosită. Pe de altă parte, Patt și Houck (1980) au mai atras atenția și asupra unor artefacte care pot interveni în estimarea efectului inhibitor al halonelor, datorită extragerii — alături de acestea — și a unor substanțe care, de asemenea, influențează proliferarea celulară. Între aceste substanțe trebuie avute în vedere mai ales poliaminele (putresceina, spermina, spermidina) și unele nucleotide sau nucleozide, inclusiv timidina, totdeauna prezentă în fracțiunile tisulare cu greutate moleculară mică. Se impune deci necesitatea elaborării unor tehnici corespunzătoare obținerii factorilor inhibitori în cantități suficiente și într-o formă pură.

În câteva lucrări, Barford (1977, 1981, 1982 a, 1982 b) a raportat rezultatele obținute privind caracterizarea unor factori inhibitori ai fazei G_1 , izolați din lichidele ascitice ale tumorii JB-1, cu ajutorul unor tehnici complexe folosind diferite materiale cromatografice (DEAE-celuloză; Dowex, Sephadex G 15 și HPLC/High performance liquid chromatography / pe Nucleosil 5 C₁₈). Autorul a reușit pe această cale izolarea și caracterizarea a 8 inhibitori G_1 , din care 4 au arătat un înalt grad de specificitate (tabelul 21.II).

CHARACTERIZAREA A 8 INHIBITORI G₁ PURIFICAȚI
(BARFOD, 1982)

TABELUL 21-II

Inhibitorul	Caracterizarea biochimică	Greutatea moleculară minimă	% din activitatea totală inhibitoare	Specificitate
I ₁	Spermină, Complex ionic cu Cis-glutation și / sau fosfat de etanolamină	343	10-15	—
I ₂	Tetrapeptidă Asp-glutation	421	0-10	—
I ₃	Nucleotide cu caracter hidrofo-bic	600	0-25	—
I ₄	Halonă (peptidă)	513	25-75	celular specifică
I ₅	Conjugat Asp-glucozamină	781	0-25	—
I ₆	Peptide cu structură asemănă-toare cu I ₄	722	10-50	celular specifice
I ₇		513		
I ₈		1 123		

În general, inhibitorii celular specifici (I₄+I₆+I₇+I₈) cumulează cea mai mare parte din activitatea inhibitoare totală. Apreciind, pe baza testelor efectuate atât *in vitro* cât și *in vivo*, activitatea per mol a inhibitorilor celulari specifici apare de 1 000× mai mare decât a inhibitorilor celulari nespecifici (Barford, 1982).

Într-un studiu recent, Barford și Schjerbeck (1982) insistă asupra tehnicilor de izolare a halonelor din lichidele ascitice ale tumorii JB-1, folosind 5 procedee diferite și ajung la concluzia că factorul inhibitor activ, celular specific, pare să fie o peptidă cu caracter hidrofob, slab acid și având greutatea moleculară cuprinsă între 500 și 1 000 daltoni. De asemenea, a fost confirmată tendința la agregare a acestui factor cu alte componente nespecifice din extracte sau chiar cu materialele cromatografice folosite. Pe lângă acestea, a mai fost notat un fapt nou de observație și anume, pierderea completă a sensibilității față de acțiunea halonei a celulelor spălate cu o soluție fiziologică, precum și redobândirea sensibilității după adăugarea de lichid ascitic celulelor în prealabil spălate. Se presupune că în lichidul ascitic ar exista factori încă neidentificați, care afectează interacțiunea halonei cu celulele.

Efectul halonelor în tratamentul diferitelor tumori experimentale, precum și efectul halonei granulocitare în leucemia mieloidă la om, au fost raportate de diferiți autori sub forma unor rezultate încurajatoare (vezi Bullough, 1977). Dat fiind faptul că aceste rezultate au fost obținute într-o perioadă în care purificarea halonelor era deficitară, ele nu pot servi ca date de referință. Pe de altă parte, au fost formulate și unele concluzii mai pesimiste privind perspectiva halonelor în tratamentul cancerului, motivate de constatarea că unele tumori canceroase s-au dovedit mai puțin sensibile la acțiunea halonelor decât țesuturile de origine, deci acestea din urmă vor fi oprite în proliferare înaintea celulelor maligne (Iversen, 1970; Ruland și DeAsua, 1979). Desigur, concluzii definitive privind eficiența terapeutică a halonelor în cancer nu vor putea fi obținute decât după ce producția acestor substanțe se va realiza în cantități suficiente pentru o testare corespunzătoare. Atunci vor putea fi studiate și mecanismele de acțiune ale halonelor și se va putea verifica valabilitatea teoriilor emise până în prezent în legătură cu acțiunea acestor inhibitori. De altfel, o critică generală care se aduce cer-

cetărilor în domeniul halonelor este tocmai faptul că totdeauna teoriile au fost mult în avans față de datele experimentale (Patt și Houck, 1980).

Rezultă că inhibitorii mitotici, halonele, rămân un subiect deschis, cu perspective promițătoare, privind elucidarea mecanismului genetic al creșterii țesuturilor normale și neoplazice.

Bibliografie

- BARDOS T. J., GORDON H. L., CHMIELEWICZ Z. F., KUTZ R. L., NADKARNI M. V. — *Cancer Res.*, 1968, 28, 1 620—1 630.
- BARFOD N. M. — *Exp. Cell. Res.*, 1977, 110, 225—236.
- BARFOD N. M. — *Europ. J. Cancer*, 1981, 17, 421—431.
- BARFOD N. M. — *J. of Chromatography*, 1982 a, 230, 113—120.
- BARFOD N. M. — *Cancer Res.*, 1982 b, 42, 2 420—2 425.
- BARFOD N. M., BIGHEL P. — *Virchows Arch. Path. Anal.*, 1976, 21, 249—258.
- BARFOD N. M., SCHJERBECK P. — *Cell Tissue Kinet.*, 1982, 15, 457—468.
- BARRA R., PARSONS J., KOCH M. R., LEA M. A. — *Cancer Res.*, 1979, 39, 1 655—1 660.
- BEALL P. T., SZOPA B., BURZYNSKI S. R., HAZLEWOOD C. F. — *Cancer Biochem. Biophys.*, 1979, 3, 93—96.
- BIGHEL P. — Ascites tumours and chalones, in: Chalones, J. G. Houck, ed., North-Holland Publishing Co. Amsterdam, 1976, 429—449.
- BONMASSAR A., HOUGHENS D., IORIO A. M., NERI M., SANTONI A., GOLDIN A. — *Eur. J. Cancer*, 1978, 14, 421—430.
- BRAVO R., FEY S. I., RELATIN J., LARSEN P. M., AREVALO J., GELIS J. E. — *Exp. Cell. Res.*, 1981, 136, 311—319.
- BULLOUGH W. S. — *Biol. Rev.*, 1962, 37, 307—312.
- BULLOUGH W. S. — Chalones and Cancer, in: Growth Kinetics and Biochemical Regulation of Normal and Malignant Cells, B. Drewinko and R. M. Humphrey eds., Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1977, p. 77—89.
- BULLOUGH W. S., MITRANI E. — An analysis of the epidermal control mechanism, in: Chalones, J. C. Houck ed., Elsevier, Amsterdam, 1976, p. 8—36.
- BULLOUGH W. S., LAURENCE E. B. — *Eur. J. Cancer*, 1968 a, 4, 587—594.
- BULLOUGH W. S., LAURENCE E. B. — *Eur. J. Cancer*, 1968 b, 4, 607—615.
- BUSCH H. — *Cancer Res.*, 1976, 36, 4 291—4 294.
- GONZALES R., VERLY W. G. — *Eur. J. Cancer*, 1978, 14, 689—697.
- HOLLEY R. W. — Control of growth of kidney epithelial cells, in: Control mechanisms in animal cells. Specific growth factors. Jimenez de Asua, Luis ed., Raven Press, New York, 1980.
- IVERSEN C. H. — *Cancer Res.*, 1970, 30, 1 481—1 484.
- KAPP J. F. — Complete tumour inhibitory by a physiological factor in cell-free tumour ascites, in: The proceedings of the EURES Symposium on the macrophage and cancer. James K. MacBride B. and Stuart A. eds., Edinburgh, 1977.
- KILIANSKA Z., HARDY K., CHIN J. F., HNILICA L. S. — *Int. J. Biochem.*, 1981, 13, 1 127—1 132.
- KINDERS R. I., JOHNSON T. C. — *Exp. Cell. Res.*, 1981, 136, 31—41.
- MOHR U., ALTHOFF V., KINZEL R., SÜSS R., VOLM M. — *Nature*, 1968, 220, 138—139.
- KRASKOVSKII G. V., MEL'NOR S. B. — *Dolk. Akad. Nauk. BSSR*, 1982, 26, 562—564.
- PATT L. M., HOUCK J. C. — *Feds Letters*, 1980, 120, 163—170.
- ROTHBARTH K., MAIER G., SCHOPF E., WERNER D. — *Eur. J. Cancer.*, 1977, 13, 1 195—1 196.
- RULAND P. S., JIMENEZ DE ASUA — *Biochim. Biophys. Acta (Amst.)*, 1979, 560, 91—133.
- RYTÖMÄÄ T., KIVINIEMI K. — *Cell Tissue Kinet.*, 1968, 1, 329—350.
- RYTÖMÄÄ T., KIVINIEMI K. — *Nature*, 1969, 222, 995—996.
- RYTÖMÄÄ T., KIVINIEMI K. — *Eur. J. Cancer*, 7, 401—410.
- RYTÖMÄÄ T., VILPO J. A., LEVANTO A., JONES W. A. — *Scand. J. Hematol. (Suppl.)*, 1976, 27, 1—28.
- SABIN A. B. — *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)*, 1981, 78, 7 129—7 133.
- SASSIER P., BERGERON M. — *Cell Tissue Kinet.*, 1978, 11, 641—650.
- WERNER D., MAIER G., LOMMEL R. — *Eur. J. Cancer*, 1973, 9, 819—824.

Rolul nucleotidelor ciclice în diviziunea celulară și diferențiere

Numeroase cercetări efectuate în ultimul deceniu au evidențiat faptul că adenzin-3', 5'-monofosfatul, denumit și AMP ciclic sau cAMP, intervine într-un mare număr de procese celulare și funcții biologice (tabelul 21.III).

EFECTELE AMP CICLIC
(STRYER, 1975)

TABELUL 21.III

Procesele	Modificarea indusă
Lipoliza	crește
Degradarea glicogenului	crește
Gluconeogeneza	crește
Permeabilitatea ionică a epitelilor	crește
Producerea reninei	crește
Contracția mușchiului cardiac	crește
Secreția HCl (mucoasa gastrică)	crește
Eliberarea amilazei (glanda parotidă)	crește
Dispersia granulelor de melamină	crește
Eliberarea insulinei (pancreas)	crește
Agregarea plăcuțelor	descrește
Creșterea celulelor tumorale în culturi	descrește

Pe lângă aceste efecte, se mai menționează rolul cAMP în reglarea ciclului celular, a ritmului de creștere, în restabilirea morfologiei celulare normale, în sinteza mucopolizaharidelor și a collagenului (Garchman, 1974). AMP ciclic inhibă inflamația și inhibă sau stimulează imunitatea, în funcție de condițiile de administrare (Bourne, 1974).

Descoperirea cAMP este legată de cercetările lui Sutherland privind mecanismul de acțiune a hormonilor adrenalina și glucagon asupra scindării glicogenului în ficat. Sutherland a ajuns la concluzia că adrenalina și glucagonul acționează printr-un mecanism având la bază cAMP ca mesager secundar în transmiterea efectului acestor hormoni (Sutherland, 1972). Aspectele esențiale ale acestui mecanism sînt următoarele:

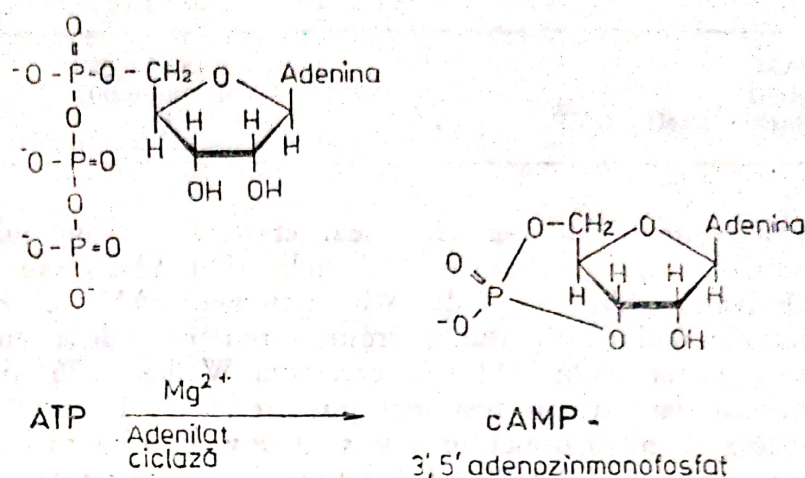
- membrana celulară conține receptori pentru hormoni;
- hormonii se fixează pe receptori specifici de pe membrană și activează adenin-ciclaza, o enzimă legată de asemenea de membrană și care realizează sinteza cAMP din ATP;
- cAMP format acționează în interiorul celulei prin activarea protein-kinazei, care la rîndul ei modulează activitatea enzimelor operative în diferite procese prin fosforilarea proteinelor structurale. De exemplu, prin fosforilarea glicogen-sintetazei și a fosforilaz-kinazei, rezultă o scădere a sintezei, respectiv o degradare a glicogenului.

Alți hormoni care acționează prin intermediul cAMP ca mesager secundar sînt: noradrenalina, vasopresina, tiroxina, hormonii parotidian și luteinizant, precum și hormonii stimulanți ai tiroidei și melanocitului.

Prin folosirea cAMP ca mesager secundar, semnalul hormonal poate fi amplificat pînă la de 10 ori (Stryer, 1975).

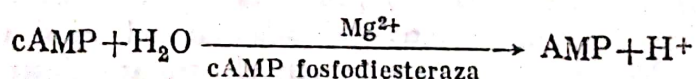
Acțiunea altor nucleotide ciclice a fost mai puțin studiată. Citozin-3'-5'-monofosfatul (CMP ciclic sau cCMP) produce la concentrația de 10^{-3} M o stimulare ușoară a proliferării celulelor V79-1A în cultură (Kovár, 1981). Guanozin-3', 5'-monofosfatul (GMP ciclic sau cGMP) influențează crește-

Fig. 21.1. — Sinteza cAMP



rea și morfologia în sens opus acțiunii cAMP; aceste două nucleotide ciclice reprezintă un sistem dualist cu efecte antagonizante (Strada și Pledger, 1975; Mironescu 1982). La concentrația de 10^{-6} M, aplicat împreună cu teofilină 10^{-5} M (inhibitor al cAMP fosfodiesterazei), cGMP exercită o ușoară acțiune stimulantă asupra creșterii celulelor V79-1A (Kovár, 1981).

Degradarea intracelulară a nucleotidelor ciclice se petrece sub acțiunea unui complex enzimatic, ciclic-nucleotid-fosfodiesteraza. Încercările făcute pentru caracterizarea acestei enzime au arătat prezența a două componente, una cu greutate moleculară de 400 000 daltoni, capabilă să hidrolizeze atât cAMP, cât și cGMP, cu afinitate relativ scăzută pentru ambele nucleotide și a doua componentă cu greutate moleculară de 200 000 daltoni, avînd o mare afinitate pentru cAMP și incapabilă să hidrolizeze cGMP (Thompson și Appelman, 1971). Ciclic-nucleotid-fosfodiesteraza hidrolizează nucleotida ciclică cu formarea unei nucleotide monofosforilate:



AMP ciclic joacă un rol integral în modularea creșterii și a morfologiei celulare, în sensul că diviziunea celulară are loc în condițiile unor niveluri scăzute ale concentrației cAMP, în timp ce diferențierea este asociată totdeauna cu niveluri ridicate ale cAMP (Strada și Pledger, 1975). Date fiind aceste participări importante ale cAMP în biologia celulară, au fost cercetate relațiile posibile dintre nucleotidele ciclice și procesele maligne.

Stevens și colab. (1968) au găsit modificări semnificative ale nivelurilor concentrațiilor cAMP și cGMP în mezoteliomamele peritoneale induse prin azbest la șobolani (tabelul 21.III).

Pe de altă parte, multe studii au avut ca obiectiv stabilirea eficienței cAMP și a derivaților acestuia asupra creșterii diferitelor tipuri de tumori experimentale. Seller și Benson (1973) au obținut o inhibiție de 50% în creșterea carcinomului Ehrlich, forma solidă sau ascitică, prin administrarea

TABELUL 21. III

CONCENTRAȚIILE cAMP ȘI cGMP ÎN MEZOTELIOAMELE PERITONEALE INDUSE DE AZBEST LA ȘOBOLANI

(STEVENS ȘI COLAB., 1978)

	CONTROL	TUMORAREA
cAMP	$0,123 \pm 0,039$	$0,029 \pm 0,004$
cGMP	$0,003 \pm 0,007$	$0,015 \pm 0,004$
Raport cAMP/cGMP	41,0	1,93

cAMP+teofilină. De asemenea, creșterea carcinomului Walker a putut fi controlată prin dibutiril-AMP ciclic (DBcAMP) sau teofilină (Keller, 1972). Derivații cAMP ca DBcAMP, 8-tiometil-cAMP și 8-bromo-cAMP au avut acțiune inhibitoare asupra creșterii tumorii indusă cu 7,12-dimetilbenzantracen, a tumorilor MTW9, carcinom Walker 256 și a hepatomului 5123. Aceiași derivați au fost mai puțin eficienți în cazul carcinoamelor mamare induse cu nitrozo-metiluree și s-au dovedit fără nici un efect în cazul fibrosarcomului GSETB 206. Când tumorile au răspuns la tratamentul cu derivați ai cAMP, atunci inhibiția creșterii a fost dependentă de doză și reversibilă după întreruperea tratamentului (Cho Chung, 1974).

Observații interesante au fost făcute și asupra celulelor normale transformate *in vitro* în celule cu potențial malign, cu ajutorul virusurilor. Astfel, în celulele transformate, nivelul concentrației cAMP este mai mic decât în celulele de origine, iar în prezența cAMP celulele transformate revin la un aspect morfologic normal (Sheppard, 1972). Cele mai mari diferențe în concentrațiile cAMP s-au observat în celulele în cultură ajunse la confluență. În acest moment conținutul de cAMP crește în celulele normale, în timp ce în celulele transformate rămâne constant sau scade, scăderea nivelului concentrației cAMP în celulele transformate fiind rezultatul descreșterii activității adenilat-ciclazei (Johnson, 1975).

Inducerea diferențierii celulelor de neuroblastom uman în cultură a fost studiată de Prasad și colab. (1975) prin creșterea concentrației cAMP intracelular, ca urmare a stimulării activității adenilat-ciclazei și a inhibării cAMP fosfodiesterazei. Prin această strategie celulele tratate sintetizează mai mult cAMP și rata de hidroliză a acestuia scade. Printr-un tratament cu prostaglandină E_1 (stimulator al adenilat-ciclazei) și cu compusul Ro 20-1724 (inhibitor al cAMP-fosfodiesterazei), concentrația cAMP în celulele de neuroblastom uman a crescut de peste 10 ori, iar diferențierea morfologică a fost mai eficientă decât atunci când s-au administrat separat cei doi agenți. Rezultatele acestui studiu au dus la elaborarea unui model experimental, care cuprinde administrarea de butirat de sodiu, L-DOPA și prostaglandină E_1 pentru stimularea activității adenilat-ciclazei și a unui inhibitor al cAMP fosfodiesterazei (Prasad și colab., 1975). Helson și colab. (1974) au tratat cu papaverină (inhibitor al cAMP fosfodiesterazei) bolnavi cu neuroblastom diseminat, rezistent la toți agenții terapeutici cunoscuți și au obținut regresia tumorilor.

Nucleotidele ciclice, cAMP și cGMP, sînt angrenate și în carcinogeneza chimică. Activarea metabolică a moleculelor de carcinogeni, inițierea, promo-

varea și ritmul de creștere, sînt asociate cu modificările concentrațiilor intracelulare ale nucleotidelor ciclice.

Celulele embrionare de hamster sirian expuse *in vitro* la acțiunea cancerigenă a N-metil-N'-nitro-N'-nitrozoguanidinei sînt protejate față de agentul cancerigen în prezența cAMP sau cGMP și a derivaților acestora. Cel mai intens efect inhibitor al frecvenței transformării prin cancerigen a fost obținut cu DBcAMP, urmat în ordine de 8-brom cAMP și cAMP. La doze echimoleculare, derivații similari substituiți ai cGMP, administrați înaintea cancerigenului, au potențat frecvența transformărilor și le-au redus în cazul administrării acestor nucleotide după agentul cancerigen. Efectele de potențare, respectiv de inhibare a derivaților cGMP au fost dependente de doză și de timp și au descrescut în ordinea DBcGMP, 8-brom cGMP și cGMP (Mironescu și colab., 1982).

În limfocitele de la bolnavii leucemici au fost observate modificări semnificative ale concentrației cGMP și ale activității guanilat ciclazei (Takemoto și colab., 1982) (tabelul 21.IV).

TABELUL 21. IV

**CONCENTRAȚIILE NUCLEOTIDELOR CICLICE
ÎN LIMFOCITELE NORMALE ȘI LEUCEMICE
(TAKEMOTO ȘI COLAB., 1982)**

Celule	cAMP	cGMP	Raportul cAMP/ GMP
Normale	54 ± 18	1 ± 0,2	54,0
Celule B (mielom)	123 ± 17	49 ± 3,0	2,9
Celule T (leucemie acută)	45 ± 6	19 ± 7,0	2,3

Determinarea concentrației cGMP în limfocitele bolnavilor leucemici a fost introdusă în practica de rutină în scop de diagnostic, ca și pentru monitorizarea tratamentului și a evoluției bolii, cunoscut fiind că în fazele active ale leucemiei au fost înregistrate niveluri ridicate ale concentrației cGMP (Skala, 1980). Deoarece concentrația ridicată a cGMP în limfocitele bolnavilor leucemici este determinată de activitatea crescută a guanilat-ciclazei, s-a apreciat că prin inhibarea acestei enzime s-ar putea obține controlul asupra bolii. Recent, Takemoto și colab. (1982) au semnalat acțiunea inhibitoare asupra activității guanilat-ciclazei exercitată de un extract apos obținut din *Momordica charantia*. Dat fiind faptul că testarea acestui preparat de origine vegetală la animale a arătat o eficiență terapeutică bună, se încearcă purificarea și obținerea unui nou factor activ în tratamentul leucemiei (Takemoto și colab., 1982).

În concluzie, nucleotidele ciclice sînt compuși de importanță deosebită în biologia cancerului, avînd în vedere faptul că nivelurile concentrațiilor celulare ale cAMP și cGMP sînt determinante pentru faptul că o celulă va deveni sau nu malignă (Strada și Pledger, 1975). Datele experimentale acumulate pînă în prezent deschid perspectivele unor noi aplicații ale dozării nucleotidelor ciclice în diagnostic și monitorizarea tratamentului, precum și a elaborării unor strategii terapeutice în cancer.

Bibliografie

- B OURNE H. R., LIGHTENSTEIN L. M., MELMON K. L., HENNEY C. S., WEINSTEIN Y. SHEARER G. M. — *Science*, 1974, 184, 19—28.
- CARCHMAN R. A. — Correlation between cyclic AMP levels and morphological transformation induced by host or viral mutation, in: Control processes in neoplasia, Mehlmann M. A., Hanson R. W. ed., Academic Press Inc., New York, 1974.
- CHO-CHUNG Y. S. — *Cancer Res.*, 1974, 34, 3 492—3 496.
- HELSON L., HELSON G., LAI K. B., PIH K. — *Proc. Amer. Assoc. Cancer Res.*, 1974, 15, 112.
- JOHNSON G. S. — The importance of cyclic AMP in cellular transformation, in: Cyclic nucleotides in disease. Weiss B. ed., University Park Press, Baltimore, 1975.
- KELLER R. — Suppression of normal and enhanced tumour growth in rats by agents interfering with intracellular cyclic nucleotides. *Life Sci.*, II (Part 2), 1972, p. 485—491.
- KOVÁR J. — *Folia biol. (Praha)*, 1981, 27, 346—353.
- MIRONESCU S. G. D., EPSTEIN S. M., DI PAOLO J. A. — *Cancer Res.*, 1982, 42, 1 274—1 278.
- PRASARD K. N., KUMAR S. — *Cancer*, 1975 a, 36, 1 338—1 343.
- PRASAD N. K., KUMAR S., BECKER G., SAHN S. K. — The role of cyclic nucleotides in differentiation of neuroblastoma cells in culture, in: Cyclic nucleotides in disease, Weiss B. ed., University Park Press, Baltimore, 1975 b.
- SELLER M. J., BENSON P. F. — *Eur. J. Cancer*, 1973, 9, 525—526.
- SHEPPARD J. — *Nature New Biol.*, 1972, 236, 14—16.
- SKALA J. P. — *Fed. Proc. Abstr.*, 1980, 1 834.
- STRADA S. J., PLEDGER W. J. — The role of cyclic nucleotides in cell growth and development. Regulation and characterization of cyclic nucleotide phosphodiesterases in mammalian cells, in: Cyclic nucleotides in disease, Weiss B. ed., University Park Press, Baltimore, 1975.
- STRYER L. — Biochemistry. Ed. W. H. Freeman and Co., San Francisco, 1975, p. 810.
- SUTHERLAND E. W. — *Science*, 1972, 177, 401—408.
- STEVENS R. H., WILL L. A., OSBORNE J. W., COLE D. A., DONHAM J. K. — *Cell Tissue Kinet.*, 1978, 11, 689.
- TAKEMOTO D. J., DUNFORD C., VAUGHN D., KRAMER K. J., SMITH A., POWELL R. G. — *Enzyme*, 1982, 27, 179—188.
- THOMPSON W. J., APPELMAN M. M. — *J. Biol. Chem.*, 1971, 246, 3 145—3 150.

21.3.

Rolul poliaminelor în proliferarea tumorală

Celulele cu ritm rapid de proliferare, cum sînt celulele din ficatul în regenerare sau din tumori, produc cantități crescute de poliamine (putresceină, spermidină și spermină), în raport cu celulele normale (Russell, 1973).

Studiile consacrate relațiilor dintre poliamine și malignitate au urmărit două obiective precise:

— determinarea concentrației poliaminelor la bolnavii canceroși, în scop de diagnostic;

— eficiența terapeutică a unui tratament care să ducă la scăderea nivelului concentrației poliaminelor în celulele conceroase.

Într-un studiu sintetic, Marton și Seidenfeld (1981) au prezentat rezultatele înregistrate de diferiți cercetători într-o perioadă de peste un deceniu în domeniul diagnosticului și al monitorizării tratamentelor în cancer.

Cele mai bune rezultate (90% valori pozitive) au fost obținute prin dozarea poliaminelor în lichidul cerebro-spinal la bolnavii cu meduloblastoame și gliome. O corelație bună a nivelului crescut al poliaminelor în urină a fost determinată la bolnavii cu limfom Burkitt, carcinom colo-rectal, carcinom pulmonar, leucemie acută și mielom multiplu. O corelație slabă a fost semnalată pentru cancerul mamar și cancerule din sfera ginecologică. Romano

și colab. (1981) au arătat că într-adevăr nu s-au remarcat diferențe semnificative privind nivelul excreției de poliamine la bolnavii cu cancer mamar în raport cu bolnavii de control, cu toate că în carcinoamele mamare concentrația poliaminelor era semnificativ crescută față de țesuturile normale.

La bolnavii cu limfom Burkitt, o corelație bună a fost găsită între nivelurile poliaminelor în urină și progresia sau regresia postterapeutică a tumorii.

După gastrectomie pentru carcinom gastric, excreția poliaminelor a scăzut. La bolnavii cu cancer colo-rectal, nivelul seric al poliaminelor descrește după intervențiile chirurgicale sau tratamentele reușite, în timp ce metastazarea a fost însoțită frecvent de creșterea nivelului poliaminelor.

Cîteva observații de ordin practic au fost de asemenea consemnate. Astfel, femeile excretă mai multă putresceină decît bărbații; copiii excretă cu ceva mai mult decît adulții, raportat la greutate; regimul alimentar nu afectează excreția de poliamine în urină; în diverse boli acute sau cronice avansate (anemie, boli autoimune, psoriazis, infecții) s-au găsit excreții crescute de poliamine; nivelurile crescute găsite înainte de tratament sînt utile pentru aprecierea dimensiunilor tumorilor și a ratelor de creștere pentru diferite tumori; ridicarea nivelului spermidinei postterapie indică răspuns la tratament și reflectă proporția de celule tumorale distruse; ridicarea nivelului putresceinei postterapie arată lipsa unui răspuns la tratament și se asociază cu creșterea tumorală.

În leucemia acută, determinările poliaminelor în urină pot să fie markeri nespecifici pentru aprecierea cineticii tumorale în timpul tratamentului. Studiul comparativ dintre nivelul poliaminelor în urină și examinările citologice au arătat că în primele 3 zile ale terapiei spermidina a crescut în urină la bolnavii cu răspuns bun, ca și la cei care nu au răspuns favorabil la tratament. La bolnavii din prima grupă creșterea concentrației spermidinei a fost semnificativ mai crescută ($p < 0,05$) față de grupa a doua. Concentrația putresceinei în urină a crescut de asemenea în cursul tratamentului bolnavilor leucemici, dar fără diferențe semnificative între cele două grupe de bolnavi. Recidivele în leucemii au fost totdeauna însoțite de o creștere a concentrației putresceinei. Deci, la bolnavii leucemici excreția spermidinei indică o terapie eficientă prin distrugerea celulelor blastice, în timp ce creșterea putresceinei în urină reflectă recidiva bolii (Romano, 1980).

În general, se poate spune că celulele aflate în proliferare rapidă produc o cantitate mai mare de poliamine decît celulele omoloage normale. Creșterea concentrației intracelulare a poliaminelor este unul din evenimentele timpurii în transformarea neoplazică și nivelul concentrației intracelulare al poliaminelor se corelează strîns cu ritmul de proliferare (Rennert și colab., 1981). Pornind de la aceste concluzii, diferiți autori au presupus că printr-o intervenție menită să scadă nivelul intracelular al poliaminelor s-ar putea inhiba proliferarea celulară, în special al celulelor canceroase. Din cele 4 enzime operative în sinteza poliaminelor în celulele de mamifere (Fig. 21.2), L-ornitin decarboxilaza (ODC) este factorul limitant, fiindcă ea controlează atît sinteza putresceinei, cît și a spermidinei și a sperminei. În consecință, un inhibitor al ODC ar putea fi eficient în terapia bolilor caracterizate printr-o multiplicare patologică a celulelor. Un număr considerabil de analogi ai ornitinei au fost testați pentru efectul lor posibil de inhibitori ODC. Din aceș-

ția s-a constatat că alfa-metil-ornitina, alfa-hidrazino-ornitina și acidul DL alfa-hidrazino-delta-amino-valerianic inhibă formarea putresceinei *in vitro* și *in vivo*. Acești inhibitori competitivi ai ODC au însă un mare dezavantaj datorită proprietăților lor de a stabiliza ODC. Cu alte cuvinte, administra-

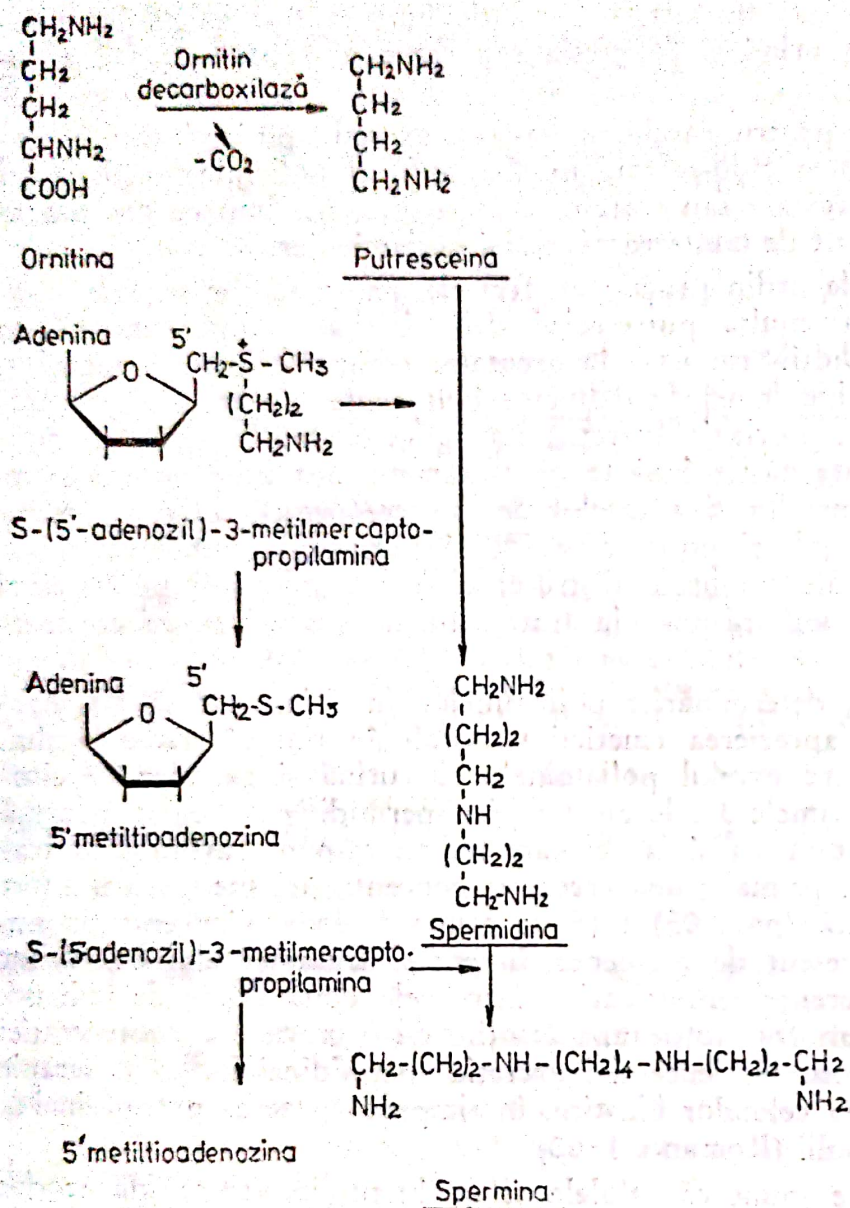


Fig. 21.2. — Sinteza poliaminelor din ornitină (Dumitru I. F., 1980).

rea inhibitorilor competitivi determină acumularea formei inhibitate ODC, iar atunci când concentrația inhibitorului scade, reactivarea enzimei produce cantități de poliamine mult peste valorile normale (Koch-Weser și colab., 1981). În continuare, cercetările au urmărit obținerea unor inhibitori ireversibili ai ODC. Cel mai activ din aceștia, DL-alfa-difluoro-metilornitina (DFMO), a fost studiat pe culturi de celule și pe modele animale. Adăugarea DFMO la celulele BHK-21 în cultură a scăzut activitatea ornitin-decarboxilazei și concentrațiile putresceinei și spermidinei, în funcție de doză și timp. De asemenea, a scăzut și sinteza ADN, precum și replicarea celulară. Adăugarea putresceinei și a spermidinei la celule de BHK-21 în cultură a suprimat efectul DFMO și a restabilit replicarea celulară normală (Villem și colab., 1982). Aceleași efecte au fost înregistrate și pentru celulele de hepatom, celulele leu-

cemice de șoarece, celulele adenomului de prostată uman și pentru celulele sarcomului mamar EMT-6 de șoarece (Koch-Weser și colab., 1981).

In vivo, DFMO a determinat o scădere rapidă, dependentă de doză, a activității ODC în prostată, timus și testicule de șobolan. Dozele repetate de 100 sau 1 000 mg DFMO/kg au scăzut concentrația putresceinei în prostată cu 98, respectiv 99%, iar a spermidinei cu 84, respectiv 96%. Pentru menținerea acestui efect maxim a fost necesar ca DFMO să fie administrat la intervale mai mici de 6 ore. DFMO a fost în general bine tolerat de animalele de experiență, chiar la doze mari. Modificările hematologice nu au fost observate la nici o specie animală după administrări de scurtă durată. Se pare că eficiența inhibitorilor ODC asupra proliferării tumorale este mai pronunțată atunci când putresceina este elementul limitant al proliferării, decât atunci când spermina deține acest rol (Koch-Weser și colab., 1981).

Mecanismul de acțiune al poliaminelor în proliferarea celulară încă nu este complet elucidat. Se presupune că poliaminele participă la consolidarea dublului helix al ADN prin constituirea unor legături slabe între grupările anionice ale acidului fosforic și grupările amino terminale (cationice) din poliamine. Această consolidare a ADN prin poliamine ar avea loc deci prin forțe electrostatice de semn contrar, de tipul celor care determină flocularea coloïdală, cunoscute și sub numele de forțe de dispersie London ori forțe van der Waals. Argumentele pentru această concepție au fost furnizate de observațiile potrivit cărora îndepărtarea poliaminelor din fagi a dus la o fragilitate a acestora. Este evident că mecanismul „împachetării” ADN este mult mai complex și pe lângă poliamine participă și alți cationi la neutralizarea electrostatică a grupărilor ionizate din acidul fosforic. Cu toate că în prezent cunoștințele privind rolul poliaminelor în biologia creșterii celulare sînt încă primitive, după cum apreciază Bloomfield și Wilson (1981), se poate presupune că inhibitorii ornitin-decarboxilazei reprezintă un domeniu promițător pentru terapia cancerului, mai ales în asocierea cu agenții chimioterapeutici citotoxici.

Bibliografie

- BLOOMFIELD V. A., WILSON R. W. — Interactions of polyamines with polynucleotides, in: *Polyamines in biology and medicine*. Morris D. R., Marton L. J. eds., Marcel Dekker Inc., New York, 1981.
- DUMITRU I. F. — Biochimie, Ed. didactică și pedagogică, București 1980, p. 793, —794.
- KOCH-WESER J., SCHECHTER P. J., BEY P., DANZIN C., FOZARD J. R., JUNG M. J., MAMONT P. S., SEILER N. — Potential of Ornithine decarboxylase inhibitors as therapeutic agents, in: *Polyamines in biology and medicine*. Morris D. R., Marton L. J., eds., Marcel Dekker Inc., New York, 1981.
- MARTON L. J., SEIDENFELD J. — Approaches to the study of polyamines as cancer markers, in: *Polyamines in biology and medicine*. Morris D. R., Marton L. J. eds. Marcel Dekker Inc., New York, 1981.
- RENNERT O. M., CHAN W., SEALE T. W., PERLMAN M. — Polyamine metabolism in human: Clinical implications, in: *Polyamines in biology and medicine*. Morris D. R., Marton L. J. eds. Marcel Dekker Inc., New York, 1981.
- ROMANO M., CECCO L., CERRA M., MONTOURI R., DE ROSA C. — *Tumori*, 1980, 66, 677—687.
- ROMANO M., CECCO L., CERRA M. — *Tumori*, 1981, 67, 431—435.
- RUSSELL D. H. — Polyamines in growth-normal and neoplastic, in: *Polyamines in normal and neoplastic growth*. pp. 1—13, Raven Press, New York, 1973.
- VILLEE C. A., LORING F. M., NAYLOR P. A. — *Biochem. Int.*, 1982, 4, 209—219.

21.4.

Prostaglandinele și cancerul

Prostaglandinele (PG) sînt un grup de acizi grași esențiali produși de aproape fiecare celulă din organism, prin oxidarea unor acizi grași polinesaturați cu 20 de atomi de carbon (AGP), care se găsesc în membrana celulară, esterificați sub formă de fosfolipide. Conversia AGP (de exemplu acidul arahidonic) în PG este realizată de un sistem enzimatic numit generic „sintetază prostaglandinică” (sintetază PG). Denumirea prostaglandinelor se face prin litere, conform particularităților structurale ale nucleului ciclopentanic (PGA, PGB, ... PGI) și cifre (PG₁, PG₂, PG₃), care indică numărul de duble legături din lanțurile colaterale.

Sinteza PG poate fi inhibată cu substanțe antiinflamatoare nesteroidice (SAN), care în ordinea puterii de acțiune sînt: indometacinul, naproxenul, acidul flufenamic, aspirina.

În ultimii 10 ani s-au descoperit și alți produși activi rezultați din metabolismul acizilor grași polinesaturați, care au fost denumiți eicosanoizi: prostaciline, tromboxani, malon-dialdehidă, leucotrieni, acizi grași hidroxilați și hidroperoxidați.

PG și eicosanoizii determină evenimente intracelulare ample, acționînd asupra unor receptori specifici din membrana celulară și modificînd conținutul citosolic de adenzin monofosfat ciclic (cAMP) și guanozin monofosfat ciclic (cGMP), nucleotide ciclice considerate a fi mediatorii proceselor energometabolice celulare. Datorită faptului că PG se inactivează în mare parte la locul producerii lor, ele nu pot exercita efecte umorale la distanță și nu pot fi deci considerate hormoni; ele au doar acțiuni locale, ca reglatori funcționali intra- și intercelulari (Păușescu și colab., 1982).

Numeroase studii au arătat că PG pot să joace un rol important în patogenia și tabloul clinic al unor boli foarte variate. Participarea PG la procesul canceros este de asemenea intens studiată, iar sistematizarea referințelor din literatură privind acest aspect se poate face astfel:

- inițierea procesului de cancerogeneză;
- promovarea cancerogenezei;
- influența PG în proliferarea și diferențierea celulară;
- procesul de metastazare.

21.4.1.

PG și inițierea cancerogenezei

Două mecanisme pot fi luate în considerare în inițierea* cancerogenezei:

(a) *Acțiune mutagenă directă.* Unii din metaboliții oxidați ai AGP sînt capabili să se lege covalent cu ADN. Astfel, s-a dovedit că sub acțiunea sintetazei tromboxanice, malon-dialdehida sintetizată din endoperoxizii prostaglandinici este carcinogenă pe unele tulpini de șoareci (Shamberger și colab., 1976) și mutagenă pe *Salmonella tiphymurium* (Mukai și Goldstein, 1976).

* „Inițierea” este prima treaptă ireversibilă în procesul de cancerogeneză, ca urmare a alterării conținutului sau expresiei materialului genetic sub influența agenților cancerigeni (viruși, radiații, substanțe chimice) determinînd o mutație genetică permanentă (detalii suplimentare sînt date în capitolul privind carcinogenii chimici, care acționează în inițierea cancerogenezei prin legarea covalentă a ADN).

Acest rol direct în inițierea carcinogenezei a fost constatat doar la malondialdehidă, dar nu poate fi exclusă posibilitatea acțiunii carcinogene a unor impurități generate de procesul de hidroliză acidă prin care se obține aceasta (Marnett și Tuttle, 1980).

(b) *Acțiune indirectă prin transformarea unor compuși necarcinogeni în substanțe carcinogene.* Hidrocarburile aromatice policiclice din mediul ambiant, cum este benzpirenol (BP), sînt oxidate enzimatic în organism; doar acești compuși au efecte mutagene și carcinogene certe. De exemplu, benzpirenol își datorează carcinogenicitatea metaboliților diolepoxizi (Kapitulnik și colab., 1978). Acest proces de oxidare este catalizat *in vivo* de oxidaze dependente de NADPH*, dar și de un agent oxidant produs prin interacțiunea endoperoxidului prostaglandinic G₂ (PGG₂) asupra unei peroxidaze microzomale (Marnett și colab., 1975). Cercetări efectuate și asupra altor hidrocarburi ciclice, cum ar fi dimetil-benzantracenul și benzantracenul, au evidențiat acțiunea secvențială a peroxidazei microzomale. Astfel, în cadrul procesului de activare oxidativă a benzpirenolului, sistemul enzimatic prostaglandinic intervine abia după transformarea BP în 7,8-diol-BP, realizată de oxidazele cu funcție mixtă dependente de NADPH (Sivarajah și colab., 1981, citat de Honn și colab.).

Rolul carcinogen al „cooxidării dependente de sintetaza PG” a fost dovedit *in vitro* de Zenser și colab. (1980) prin studiul acțiunii benzidinei (carcinogen vezical binecunoscut) asupra regiunii medulare interne a rinichiului de iepure, unde enzimele dependente de NADPH sînt practic absente. S-a constatat apariția de tumori în această regiune, știindu-se că benzidina are potențial carcinogen doar după ce este oxidată.

21.4.2.

Rolul PG în promovarea cancerogenezei

Există fapte care sugerează rolul PG în promovarea cancerogenezei**, deoarece s-a constatat că sub acțiunea unor „promotori” este stimulată sinteza de PG. În studiile experimentale este frecvent utilizat ca promotor tetradecanoil-forbol-acetatul (TFA). Aplicarea cutanată a acestui forbol la șoarece determină, alături de alte evenimente biochimice (accelerarea sintezei lipidelor și ADN, creșterea activității unor enzime), și creșterea nivelurilor de PG, prin stimularea sintezei acestora (Levine și colab., 1977).

S-a demonstrat de asemenea că terpenii de tipul tioglianului, ingenanului și dafananului, care sînt promotori puternici ai cancerogenezei atunci cînd sînt aplicați pe tegument (la șoarece), sînt și stimulatori puternici ai sintezei de PG (Bresnick și colab., 1979; Ashendel și Boutwell, 1979). Se consideră că unul din primele efecte cutanate ale acestor promotori aplicați precutanat este deacilarea fosfolipidelor celulare, cu eliberarea de acid arahidonic (precursor de PG) (Brune și colab., 1978).

* NADPH = Fosfat de nicotinamidoadenin-dinucleotid.

** Cancerole induse chimic au o perioadă latentă lungă între momentul aplicării carcinogenului și apariția unei tumori palpabile. Administrarea unor compuși chimici numiți „promotori” favorizează canceroleza, scurbind perioada de apariție a tumorii și/sau reducînd cantitatea totală a carcinogenului care inițiază procesul.

Întrebarea la care se încearcă un răspuns prin studii experimentale de cancerogeneză cutanată murină este dacă pot fi considerate PG ca promotori tumoral propriu-ziși. Există 2 opinii:

(a) Cele mai multe studii ajung la concluzia că PG sînt factori prin care se realizează efectele promotorilor clasici (de exemplu derivații de forbol amintiți), dar nu sînt ele însele promotori;

— creșterea activității decarboxilazei ornitinei, care este un efect specific al acțiunii forbolilor, este puternic deprimată de inhibitori ai sintezei de PG (indometacin, aspirină, acid flufenamic) (Verma și colab., 1977);

— indometacinul suprimă stimularea sintezei de ADN indusă de promotorii clasici și crește numărul mitozelor în celulele cutanate ale șoarecelui (Furstenberger și colab., citați de Honn și colab., 1981);

— prostaglandinele E₁, E₂, D₂, I₂ au rolul favorizant în activarea ornitinei de către forboli;

— inhibitorii sintezei de PG reduc șansele de transplantare tumorală (Lynch și Salomon, 1979) și de inducere a tumorilor colice cu metil-azoximetanol la șobolan (Kudo, 1980).

(b) A doua opinie susține *rolul direct* al PG în promovarea cancerogenezei, adică a interpretării PG ca substanțe cocarcinogene.

Unul din argumentele experimentale ale acestei opinii este constatarea că administrarea intramusculară de PGE₂ la șoarecii masculi albișori din rasa elvețiană, concomitent cu aplicarea topică de metil-colantren, accelerează formarea de carcinoame cutanate (Lupulescu, 1978), exercitînd astfel un efect de „promovare“.

21.4.3.

Influența PG asupra proliferării și diferențierii celulare

Rezultatele experimentale privind influența PG asupra proliferării celulare au evidențiat un efect inhibitor, de „limitare“ a acesteia.

Studiile cele mai interesante au fost făcute pe celule sușe ale sistemului hematopoietic. Celula precursoră bipotențială granulocit-macrofag, sub influența unor „factori de stimulare clonală“ (FSC), a căror sursă este reprezentată de monocite și macrofage (Eaves și Bruce, 1974), poate prolifera clonal în mediu cu agar. Stimularea sintezei și eliberării acestor „factori de stimulare clonală“ de către macrofage se poate obține cu endotoxină. PGE₁ și PGE₂, adăugate în cultură, inhibă proliferarea acestor celule sușe (Kurland și Moore, 1977), iar un exces de FSC previne această inhibiție (Kurland și colab., 1978). Pe măsură ce are loc diferențierea celulelor proliferate și transformarea lor în macrofage, acestea eliberează PGE în doze progresiv crescînde, limitînd proliferarea. Astfel, FSC și PGE acționează „în balanță“, reglînd rata de proliferare și diferențiere a unei populații celulare clonale, potențialul proliferativ net al clonului mielopoietic fiind determinat de nivelurile relative ale FSC și PGE.

Acțiunea inhibitoare a PG derivate din macrofage asupra proliferării celulelor sușe din seria hematopoietică a fost confirmată de Miller și colab. (1978), iar seria E de PG s-a dovedit cea mai activă din clasele de PG (Pelus, 1981 — citat de Honn și colab., 1981). Mai mult, Williams și Jackson

(1980) au arătat că doar celulele precursorare pentru macrofage sînt reglate de PGE, pe cînd celulele de origine ale granulocitelor nu sînt influențate de PG.

Honn și colab. (1980) au studiat influența PG asupra unei linii celulare provenită dintr-o leucemie mieloidă murină, linie la care se putea induce diferențierea celulelor în macrofage și granulocite mature. S-a constatat că pe măsură ce creștea numărul de macrofage (deci diferențierea), creștea și sinteza de PGE, autolimitîndu-se atît proliferarea celulelor mioide, cît și diferențierea acestora, așa cum se întîmplă și în măduva sănătoasă. *Aceeași acțiune de inhibiție* a PGE asupra coloniilor de celule leucemice a fost observată de Koefler și Golde (1980) la două linii celulare obținute de la bolnavi cu leucemie acută mieloidă. Și în această situație, „factorii de stimulare clonală” determinau creșterea formării de colonii, în antiteză cu PGE, realizînd un cuplu de reglare a proliferării și diferențierii unor linii celulare maligne.

Cităm și alte studii care au evidențiat acțiuni inhibitorii ale PGE asupra proliferării unor linii celulare din hemopatiile maligne:

— Aglietta și colab. (1980) constată efectul inhibitor al PGE în leucemia mieloidă cronică, dar constată și „rezistența” unor subpopulații celulare la acțiunea PGE (Pelus și colab., 1980);

— în boala Hodgkin, monocitele sintetizează PGE_2 în cantități direct corelate cu stadiul bolii și invers proporționale cu proporția celulelor precursorare circulante ale limfocitelor T (Bockman, 1980);

— în leucemiile limfocitare la șoarece s-a constatat o reducere cu 50% a formării de colonii, într-un studiu privind o linie leucemică limfocitară la care s-a adăugat PGE (Yang, 1976);

— PGE sînt capabile de asemenea să inhibe replicarea celulelor provenite din limfoamele murine singenice (EL-4) (Sonis și colab., 1977).

Nu se cunoaște acțiunea PG asupra celulelor din leucemia limfocitară umană (Honn și colab., 1981), dar se știe că asupra limfocitelor umane mature PG au efect inhibitor (Stobo și colab., 1979).

În ceea ce privește diferențierea, este remarcabilă constatarea că epiteliul mamar se poate metaplasia pavimentos atunci cînd se administrează PGE în combinație cu papaverină în culturile de celule (Schaefer și colab., 1980). Aceeași acțiune de *stimulare a diferențierii* a fost observată în culturile de celule provenite dintr-un neuroblastom al șoarecelui (Lazo, 1977).

În concluzie, cele mai multe studii experimentale pun în evidență o acțiune inhibitorie a PG (în special din seria E) asupra proliferării maligne, acest aspect fiind însă limitat, reprezentînd de fapt conservarea unei funcții a celulei normale în cadrul sistemului de feedback tisular, care determină rata normală de creștere și diferențiere. Constatarea pierderii acestei „receptivități” la acțiunea PG (de inhibiție asupra creșterii celulelor unor anumite linii maligne) definește în această ordine de idei o malignitate crescută, după cum există și situații (celulele eritropoietice) în care PG stimulează proliferarea și diferențierea. Nu am insistat asupra acestui ultim aspect, deoarece nu a fost corelat cu vreo modificare a nivelurilor celulare de cAMP (Jubiz și colab., 1979), în timp ce acțiunea inhibitorie a corespuns unor modificări ale cAMP, emițîndu-se ipoteza acțiunii PG prin intermediul adenilciclazei (Honn și colab., 1981).

Metastazarea, adică procesul prin care celulele maligne eliberate din tumoarea primară diseminază și proliferază la distanță, este influențată de factori multipli: rata de creștere a tumorii, gradul de vascularizație a acesteia, echilibrul imunologic gazda-tumoare, hormono-dependența etc. Cunoștințele actuale nu lămuresc relația dintre metastazare și PG. Menționăm totuși câteva ipoteze, în care PG sînt direct angajate în procesul de metastazare:

(a) Osteoliza din metastazele osoase ale cancerului mamar este mediata prin activarea osteoclastelor de către PG produse în exces de metastază. Powles și colab. (1973) au observat o activitate osteolitică foarte accentuată a tesutului mamar tumoral *in vitro*. Incubarea culturilor de tesut tumoral cu acid acetic (inhibitor de SP) duce la anularea activității osteolitice a tumorii. Aceasta experiență sugerează că tumoarea produce un „likematerial prosta-glandinic” care poate fi una din cauzele resorbției osoase.

(b) Durerea din metastazele osoase, potrivit ipotezei lui Ritchie (1980) este consecința stresului osos prin eliberarea masivă a calciului de pe matricea osoasă, datorită acțiunii osteoclastelor stimulate de PG, care au în același timp și acțiune hiperalgică periferică (locul de stres fiind din acest punct de vedere un focar inflamator). Acțiunea Tamoxifenului asupra metastazelor osoase din cancerul mamar ar putea fi explicată și prin concentrarea acestuia în tesutul tumoral, unde inhibă sinteza PG. Acesta ar putea fi și mecanismul prin care Tamoxifenul acționează favorabil și în durerile din metastazele osoase ale altor cancere, în care concentrarea în tumoare este crescută față de cea sanguină (de exemplu, în cancerul de endometru de 3 ori, în cancerul de prostată de 10 ori). (c) Honn și colab. (1981) propun o ipoteză potrivit căreia celulele tumorale activează coagularea prin favorizarea agregării trombocitare, ca urmare a alterării balanței critice dintre tromboxanul A_2^* și PGI_2 (prostaciclina). TxA_2 , produs de trombocite, este un vasoconstrictor puternic al vaselor mari și induce agregare trombocitară, în timp ce PGI_2 este un vasodilatator puternic și cel mai puternic inhibitor al agregării trombocitare (Moncada și Vane, 1979). Mecanismul de control al agregării trombocitare depinde de echilibrul acestor substanțe; ruperea echilibrului în favoarea PGI_2 ar crea o situație defavorabilă metastazării, întrucît metastazarea este facilitată de hipercoagulare, respectiv agregare trombocitară (Donati și colab., 1981). Ca dovadă, PGI_2 reduce semnificativ formarea de colonii tumorale pulmonare din celulele melanomului acrom B16, iar tratamentul anticoagulant cu warfarina, care determină legarea de albumine a TxA_2 și diminuarea acțiunii acestuia, are și efecte anti-metastatice (Folco și colab., 1977). De asemenea, s-a demonstrat că injectarea zilnică a unui inhibitor al sintezei TxA_2 reduce apariția spontană a metastazelor pulmonare de la un carcinom Lewis subcutanat (Honn și colab., 1980).

* TxA_2 (tromboxanul A_2) este tot o PG, care conține în structura sa un inel oxano-metan în locul nucleului ciclopentanlic al PG „clasic” (Păușescu și colab., 1982). ** S-a dovedit capacitatea unui spectru larg de celule tumorale de a determina *in vitro* agregarea trombocitară (Gasle și colab., 1976).

Deoarece nu toate anticoagulantele acţionează şi ca agenţi antimetastatici (Lioné şi colab., 1978), precum nici toţi inhibitorii sintezei de PG, ipoteza emisa de Honn şi colab. evidenţiază subtilitatea intervenţiei PG în procesul de metastazare, înclinarea balanţei spre unul sau altul din derivaţii oxidaţi ai acizilor graşi polinesaturaţi putând să modifice semnificativ şi procesul de metastazare. Conform acestei ipoteze, „manipularea selectivă” a etapelor metabolice de sinteză a diferitelor PG ar putea constitui un mijloc terapeutic în controlul diseminării hematogene a celulelor tumorale.

Şi alte observaţii experimentale aduc date în favoarea influenţării metastazării prin PG:

- se apreciază că PG pot să exercite efecte antiinune prin suprimarea mecanismelor de apărare faţă de cancer (Mertin, 1973); concordanţă cu această apreciere este constatarea unei puteri de metastazare invers proporţională cu nivelurile tumorale de PGE_2 în unele carcinoame mamare transplantabile la sobolani, capabile să metastazeze spontan (Kibbey şi colab., 1978);
- Lupulescu (1980) a studiat transplantabilitatea carcinoamelor pavi-mentoase induse chimic la şoareci singenici, demonstrând că PGE_2 şi PGE_2 cresc reuşita de transplantare de la 40 la 87%; acelaşi fenomen se realizează doar în condiţii de imunosupresie sau în absenţa timusului (Nemato şi colab., 1971);

- supravieţuirea postoperatorie este invers proporţională cu cantitatea de PG extrase din ţesutul mammar tumoral (Bennett şi colab., 1979), iar cele mai înalte niveluri de substanţe like-PGE au fost constatate în tumoriile cu agresiune microscopică crescută şi rapid metastazante (Rolland şi colab., 1980);
- comparativ cu mucoasa normală a colonului, tumoriile colice au niveluri mult mai crescute de PG (Bennett şi colab., 1977).

Nu se poate însă afirma categoric că tumoriile maligne sînt caracterizate printr-un conţinut invariabil crescut de PG. Feller şi colab. (1979) au determinat conţinutul de PGE_2 a peste 50 de tumori mamare benigne şi maligne, găsind niveluri crescute de PGE_2 doar la jumătate din tumoriile maligne, celelalte avînd un conţinut de PG asemănător ţesutului mammar normal sau tumo-rilor benigne.

Pentru a rezuma opinia actuală privind relaţia PG — cancer — metastaza-re, putem afirma (Ziboh şi colab., 1981) că celulele maligne au o capacitate crescută de a sintetiza prostaglandine, dar că tipul de PG produs de un anumit tip de celulă (PGE , PGF , PGD etc.), ca şi amploarea sintezei, sînt foarte variabile. Problema este cu atât mai complexă, cu cît sursa de PG din tumoare şi circulaţie este mixtă, neputîndu-se aprecia cu siguranţă contribuţia relativă a celulelor tumorale propriu-zise şi cea a celulelor organismului gazdă (în special monocitele şi macrofagele). Astfel, originea producţiei totale de PG a tumoriilor maligne solide rămîne nerezolvată, ca şi substratul teoretic al relaţiei dintre *productia excesivă de PGE şi metastazare* (Honn şi colab., 1981), aceasta putînd fi expresia unei sinteze crescute din partea celulelor tumorale sau o stare specială a celulelor antrenate în imunitate, în care sinteza de PG este amplificată.

* Indometacinaul şi aspirina au efecte altă inhibitorii (Gasic şi colab., 1973), cit şi stimulatorii (Hilgard şi colab., 1976) asupra metastazelor.

Testul tumoral mamar cunoscut produce o cantitate crescută de PG, comparativ cu testul mamar sănătos (Dowsett și colab., 1976; Bennett și colab., 1976). Numeroase studii au încercat să interpreteze semnificația acestui fenomen, care totuși încă nu a fost stabilită (Kibbey și colab., 1979; Martin și colab., 1980; Malachi și colab., 1981).

Vom menționa totuși, cu titlu informativ, cele mai importante observații, chiar dacă nu pot fi considerate definitive, fiind încă controversate: — cu cât un cancer mamar produce mai mult „prostaglandin-like material”, cu atât supraviețuirea bolnavei este mai scurtă (Leaper și colab., 1979 și Bennett și colab., 1980). Rolland și colab. (1980) considerau chiar că intensitatea producerii de PG de tumorile mamare este un marker al potențialului malign al celulelor mamare. În contradicție cu aceste constatări, amintim rezultatele studiului lui Dowsett și colab. (1976), care nu au constatat diferențe în producția de PG a testului tumoral malign și a celui benign. De asemenea, nici Malachi și colab. (1981) nu au putut corela nivelul tisular (cancer mamar uman) de PGF_2 cu stadiul clinic și supraviețuirea.

— În ceea ce privește nivelul de PG din sângele periferic, au fost constatate valori crescute la bolnavele cu cancer mamar, comparativ cu un lot mare tor (Stamford și colab., 1980; Powles și colab., 1977). Cum susțin Caro și colab. (1979) chimioterapia determină o scădere a nivelului de PG plasmatic. Totuși, în studiul lui Malachi și colab. (1981), la multe bolnave cu cancer mamar au fost înregistrate valori plasmatică a PG egale cu cele din tumorile benigne, fără să se poată constata vreoaică relație între concentrația serică de PG și evoluția clinică a cazurilor.

Am menționat aceste date pentru a ilustra pașii încă nesiguri din etapa analitică a relațiilor posibile dintre PG și un cancer cercetat intens sub toate aspectele, cancerul mamar.

2146. Aspecte farmacologice în relația prostaglandine-cancer

Doa feluri de studii experimentale au urmărit posibilitățile terapeutice de inhibare a creșterii tumorale: (1) utilizarea inhibitorilor de SP (adică substanțe antiinflamatoare nesteroidice — SÂN): aspirina, indometacin etc. și (2) utilizarea unor anume PG sau analogi prostaglandinici.

Utilizarea terapeutică a acestor categorii de substanțe (cu acțiune evident opusă) nu a depășit etapa experimentală, fiindcă rezultatele sînt diferite în funcție de tumorile luate în studiu și de preparatul testat. De multe ori aceste rezultate experimentale nu corespund cu ipoteza autorilor înainte de terminarea cercetării.

2146.1. Utilizarea inhibitorilor de PG

În literatură există numeroase comunicări privind rezultatele favorabile experimentale, obținute cu inhibitori ai sintezei PG în diminuarea creșterii tumorale și prelungirea timpului de supraviețuire (Lynch și colab., 1979;

Bennett și colab., 1979 etc.). Și în această problemă se constată multe excepții care creează confuzie. Astfel, s-a observat că indometacinul grăbește evoluția unei tumori la animale și stimulează proliferarea celulelor de melanom B16 în cultură (Santoro și colab., 1976).

În ceea ce privește asocierea SAN la chimioterapie, imunoterapie sau radio-terapie, impresia generală este de îmbunătățire a rezultatelor, cu toate că un studiu (Hofer și colab., 1980) a evidențiat o mai bună viabilitate a celulelor maligne puse în contact cu indometacin plus citostatic, decât a celulelor maligne puse în contact doar cu un citostatic.

21.4.6.2.

Utilizarea PG sau analogilor de PG

Utilizarea PG sau analogilor de PG a fost încercată tocmai datorită rezultatelor contradictorii obținute cu SAN. Din cele mai recente studii amintim pe cel care a evidențiat obținerea unor efecte inhibitorii asupra adenocarcinomelor colice la șobolan și umane transplantate, prin utilizarea unui analog de PGF_2 (Turton și Barkla, 1980). De asemenea, s-a constatat că PGA_1 și PGA_2 au un efect inhibitor asupra mai multor modele tumorale, iar *in vivo* efecte de stimulare a imunității.

În concluzie, potrivit părerii lui Honn și colab. (1981) se poate spune că SAN inhibă *in vivo* creșterea tumorală, deși indometacinul experimentat *in vitro* stimulează proliferarea celulară. Acest fapt s-ar putea explica prin stimularea sintezei endogene de PG, cu influențarea posibilă a gradului de imunitate. Anume PG și analogi ai acestora, fără să fie prin ele însele imunosupresoare, pot să inducă inhibarea proliferării, acționând ca agenți citostatici.

21.4.7.

Rezumat

Rolul prostaglandinelor în cancer nu este clar (Karmali, 1980; Honn și colab., 1981). Cu toată încercarea de sistematizare a materialului analitic bogat privind PG și cancerul, nu pot fi trase concluzii ferme privind această relație, în primul rând datorită marii variabilități de acțiune a acestei clase largi de factori de reglare celulară. Cele mai importante achiziții de etapă în studiul acestei relații sînt următoarele:

— este pe deplin demonstrată influența PG asupra cancerului, atât în ceea ce privește creșterea (proliferarea) tumorală, cât și în ceea ce privește metastazarea;

— efectele de stimulare sau de inhibiție exercitate de PG asupra tumorii depind de tipul de PG cercetat și de modelul experimental, PGE realizând în general inhibiția proliferării celulare, care se asociază și cu modificări în conținutul celular de cAMP;

— ca urmare a sintezei în exces a unor tipuri de PG, are loc o modificare a balanței coagularii, repercușuni în mecanismul de metastazare. PGI_2 sau inhibitorii ai sintezei TxA_2 pot să acționeze ca factori antimetastatici;

— în ceea ce privește inhibiția sintezei de PG, adică substanțele anti-inflamatoare nesteroidice, cum sînt aspirina și indometacinul, acestea au *in vivo* o acțiune în general inhibitorie asupra creșterii celulare, dar într-o schemă

ipoteză de tratament ar trebui cuprinsă în mod individualizat atât inhibitorii ai sintezei de PG, cât și PG, în funcție de observațiile experimentale privind potențialul citostatic al acestor combinații.

Bibliografie

- AGILETTA M., PLACIBELLO W. AND GAVOSTO F. — *Cancer Res.*, 1980, 40, 2507-2511.
- ASHENDEL C. L., BOUTWELL R. K. — *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1979, 90, 623-627.
- BENNETT A., CHARLIER E. M., MACDONALD A. M., SI COLAB. — *Prostaglandins*, 1976, 11, 461-462.
- BENNETT A., DELTACCA M., STAMFORD I. M. SI COLAB. — *Brit. J. Cancer*, 1977, 35, 881-881.
- BENNETT A., HOUGHTON J., LEAPER D. J., STAMFORD I. F. — *Prostaglandins*, 1979, 17, 179-191.
- BENNETT A., BERTSTOCK D. A., RAJA B., STAMFORD I. M. — *Brit. Pharm. Soc.*, 1979, 4-6 th, april, 1979, 451 p.
- BRESNICK E., MOUNIER P., LAMDEN M. — *Cancer Letts*, 1979, 7, 121-125.
- BRUNE K., KALIN H., SCHMIDT R., HECKER E. — *Cancer Letts*, 1978, 4, 333-342.
- BECKMAN R. S. — *J. Clin. Invest.*, 1980, 66, 523-531.
- CARO J. F., BESARAB A., FLYNN J. T. — *Amer. J. Med.*, 1979, 66, 837-841.
- DONATI M. B., DAVIDSON J. F., GARATTINI S. eds. — *Malignancy and the hemostatic system* Raven Press, New York, 1981.
- DOWSETT M., EASTY G. T., POWELS J. T. SI COLAB. — *Prostaglandins*, 1976, 11, 447-460.
- FELLER N., MALACHI T., HALBRECHT I. — *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 1979, 95, 275-280.
- FALCO G., GRANSTROM E., KINDAHL H. — *Fed. Eur. Biochim. Soc. Letts*, 1977, 82, 321-324.
- GASIC G. J., GASIC T. B., GALANTI N. SI COLAB. — *Int. J. Cancer*, 1973, 11, 704-718.
- GASIC G. J., KOCH P. A. G., HSU B. SI COLAB. — *Z. Krebsforsch.*, 1976, 86, 263-277.
- HONN K. V., CIGONE B., SKOFF A. SI COLAB. — *J. Cell. Biol.*, 1980, 87, 61.
- HILGARD P., HELLER H., SCHMIDT C. G. — *Z. Krebsforsch.*, 1976, 86, 243-250.
- HOFER D., DUBITSKY A. M., REILLY P. SI COLAB. — *Prostaglandins*, 1980, 20, 1033-1039.
- JUBIZ W., FRALLEY J., SMITH J. B. — *Cancer Res.*, 1979, 39, 998.
- KAPITULNIK J., WISLOCKI P. G., LEVIN W., YOGI H., JERINA D. M., CONNEY A. H. — *Cancer Res.*, 1978, 38, 354-358.
- KARMALI R. A. — *Prostaglandins Med.*, 1980, 5, 11-28.
- KIBBEY W. E., BRONN D. G., MINTON J. P. — *Lancet*, 1978, 1, 101.
- KIBBEY W. E., BRONN D. G., MINTON J. P. — *Prostaglandins*, 1979, 2, 133-139.
- KUDO T., NARISAWA T., ABO S. — *Gann*, 1980, 71, 260-264.
- KURLAND J., MOORE M. A. S. — *Exp. Hematol. (Copenhag.)*, 1977, 5, 357-373.
- KURLAND J. I., BOCKMAN R. S., BROXMEYER H. E. SI COLAB. — *Science*, 1978, 199, 552-555.
- LAZO J. S., RUDDON R. W. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1977, 59, 137-143.
- LEAPER D. J., FRENCH B. T., BENNETT A. — *Brit. J. Surg.*, 1979, 66, 683-686.
- LIONE A., BOSMANN H. B. — *Cell. Biol. Int. Rep.*, 1978, 2, 81-86.
- LUPULESCU A. — *Nature*, 1978, 272, 634-636.
- LUPULESCU A. — *Oncology*, 1980, 37, 418-423.
- MALACHI T., CHAIMOFF CH., FELLER N. SI COLAB. — *J. Canc. Res. Clin. Oncol.*, 1981, 102, 71-79.
- MARNETT L. J., WLODAWER P., SAMUELSSON B. — *J. Biol. Chem.*, 1975, 250, 8510-8517.
- MARNETT L. J., TUTTLE M. A. — *Cancer Res.*, 1980, 40, 276-282.
- MARTIN P. M., JACQUEMIER J., ROLLAND A. M. SI COLAB. — *Prostaglandin production and metabolism in human breast cancer*, in: Samuelsson B. et al. eds., *Advances in prostaglandin and thromboxane research*, vol. 6, New York, Raven Press, 1980, p. 575-581.
- MERTIN J. — *Brit. Med. J.*, 1973, 4, 357.

- MILLER A. M., RUSSELL T. R., GROSS M. A., YUNIS A. A. — *J. Lab. Clin. Med.*, 1978, 92, 983—990.
- MUKAI F. H., GOLDBSTEIN B. D. — *Science*, 1976, 191, 868—869.
- NEMATO N., KATO N., MIZUNO D. — *Gann*, 1971, 62, 239—300.
- PĂUȘESCU E., CHIRVĂȘIE R., NECHIFOR M. — *Prostaglandinele în patologie și teraputică*, Ed. medicală, București, 1982, p. 11—21, 209—230.
- PELUS L. M., BROXMEYER H. E., CLARKSON B. D., MOORE M. A. S. — *Cancer Res.*, 1980, 40, 2512—2515.
- POWLES T. J., CLARK S. A., EASTY D. M. — *Brit. J. Cancer*, 1973, 28, 316—321.
- POWLES T. J., DADY P. J., WILLIAMS J. — *COLAB.* — Use of inhibitors of prostaglandin synthesis in patients with breast cancer, in: Samuelsson et al., eds., "Advances in prostaglandin and thromboxane research", vol. 6, New York, Raven Press, 1980, p. 511—517.
- RITCHIE G. A. F. — The direct inhibition of prostaglandin synthetase of human breast cancer tumour tissue by tamoxifen, in: Henningsen B. et al., eds., "Endocrine treatment of breast cancer" Berlin-Heidelberg-New York, Springer, 1980, p. 96—101.
- ROLAND P. H., MARTIN P. M., JACQUEMIER J. — *COLAB.* — *J. nat. Cancer Inst.*, 1980, 64, 1061—1070.
- SANTORO M. G., PHILPOT G. W., JAFFE B. M. — *Nature*, 1976, 263, 777—779.
- SCHAEFER F. V., CUSTER R. P., SOROT S. — *Nature*, 1980, 286, 807—810.
- SHAMBERGER R. J., ADREONE T. L., WILLIS C. E. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1974, 53, 1771—1773.
- SONIS S. T., STELOS P., STYLOS W. A. — *COLAB.* — *Prostaglandins*, 1977, 13, 87—96.
- STAMFORD I. F., MACINTYRE J., BENNETT A. — Human breast carcinomas release prostaglandin-like material into the blood, in: Samuelsson R. et al., eds., "Advances in prostaglandin and thromboxane research", vol. 6, New York, Raven Press, 1980, p. 571—575.
- STOBO T. D., KENNEDY M. S., GOLDBYNE M. E. — *J. Clin. Invest.*, 1979, 64, 1188—1195.
- TASHJIAN A., VOELKEL E., LEVINE L. — *COLAB.* — *J. Exp. Med.*, 1972, 136, 1329—1343.
- VERMA A. K., RICE H. M., BOUTWELL R. K. — *Biochem. Biophys. Comm.*, 1977, 79, 1160—1166.
- VERMA A. K., ASHENDEL C. L., BOUTWELL R. K. — *Cancer Res.*, 1980, 40, 308—315.
- WILLIAMS N., JACKSON H. — *J. Cell. Physiol.*, 1980, 103, 239—246.
- YANG T. J., DALE J. B., MACHANOFF R. — *J. Cell. Sci.*, 1976, 20, 199—206.
- ZENSER T. V., MATAMMAL M. B., ARMBRECHT H. J. — *COLAB.* — *Cancer Res.*, 1980, 40, 2839—2845.
- ZIBOH V. A., MILLER A. M., YUNIS A. — *COLAB.* — *Cancer Res.*, 1981, 41, 12—17.

Imunologia tumorilor maligne

I. CHIRICUȚĂ • MONICA CRIȘAN

Cuprins

- 22.1. Antigenele tumorale — 600
 - 22.1.1. Antigenele tumorilor induse chimic — 601
 - 22.1.2. Antigenele tumorilor induse viral — 603
 - 22.1.2.1. Antigenele tumorilor induse de virusurile oncogene ADN — 604
 - 22.1.2.1.1. Antigenele induse viral — 604
 - 22.1.2.1.2. Antigenele virale structurale — 605
 - 22.1.2.1.3. Antigenele onco-fetale — 605
 - 22.1.2.2. Antigenele tumorilor virale ARN — 605
 - 22.1.2.2.1. Antigenele tumorale induse de virus — 606
 - 22.1.2.2.2. Antigenele tumorale virale (structurale) — 606
 - 22.1.3. Antigene onco-fetale sau onco-embrionare — 608
 - 22.1.3.1. Antigenul carcino-embrionar (CEA) — 611
 - 22.1.3.2. Alfa₁-fetoproteina (AFP) — 612
 - 22.1.3.3. Alte antigene — 613
 - 22.1.4. Antigenele tumorilor spontane — 614
 - 22.1.5. Antigene tumorale specifice sau asociate? — 618
- 22.2. Reacția imună antitumorală — 619
 - 22.2.1. Supravegherea imunologică — 619
 - 22.2.2. Mecanismul reacțiilor imune — 619
 - 22.2.2.1. Limfocitele T și B — 622
 - 22.2.2.1.1. Limfocitele B — 623
 - 22.2.2.1.2. Limfocitele T — 624
 - 22.2.3. Rolul complexului major de histo-compatibilitate (MHC) în răspunsul imun — 627
 - 22.2.3.1. Rolul MHC în respingerea alogrefelor — 629
 - 22.2.3.2. Rolul MHC în cooperarea celulelor din răspunsul imun — 630
 - 22.2.3.3. Rolul MHC în activitatea citotoxică a limfocitelor T — 633
 - 22.2.4. Mecanismele efectoare (citotoxice) în cancer — 634
 - 22.2.4.1. Anticorpii — 635
 - 22.2.4.1.1. Citotoxicitatea mediată de anticorpi și complement — 637
 - 22.2.4.1.2. Citotoxicitatea dependentă de anticorpi mediată celular — 639
 - 22.2.4.2. Limfocitele T — 640
 - 22.2.4.2.1. Sensibilizarea la antigenele tumorale — 641
 - 22.2.4.2.2. Citotoxicitatea limfocitelor T — 642
 - 22.2.4.3. Celulele K — 644

- 22.2.4.4. Celulele NK — 644
 - 22.2.4.4.1. Asemănările dintre celulele NK și K — 645
 - 22.2.4.4.2. Celulele țintă pentru activitatea NK — 646
 - 22.2.4.4.3. Stimularea citotoxicității NK — celule NK activate — 646
 - 22.2.4.4.4. Rolul celulelor NK în supravegherea imună — 647
- 22.2.4.5. Macrofagele — 648
 - 22.2.4.5.1. Citotoxicitatea macrofagelor — 649
 - 22.2.4.5.2. Rolul macrofagelor în generarea celulelor reglatoare și efectoare — 651
- 22.3. Mecanismele de „scăpare” a tumorilor de controlul imunității — 653
 - 22.3.1. Imuno-deficiența gazdei — 653
 - 22.3.1.1. Argumente experimentale — 653
 - 22.3.1.2. Argumente clinice — 654
 - 22.3.2. Toleranța imunologică — 656
 - 22.3.3. Facilitarea imunologică — blocajul — 657
 - 22.3.3.1. Ipoteza blocajului aferent — 659
 - 22.3.3.2. Ipoteza blocajului eferent — 659
 - 22.3.3.3. Ipoteza inhibiției — 660
 - 22.3.3.4. Ipoteza blocajului central — 660
 - 22.3.4. Stimularea celulelor supresoare — 662
 - 22.3.5. Dezvoltarea tumorilor în zone privilegiate, izolate imunologic — 665
 - 22.3.6. Lipsa de antigenicitate sau antigenicitatea slabă a tumorilor — 666
 - 22.3.7. Imuno-rezistența și imuno-selecția — 666
 - 22.3.8. „Furișarea” celulelor tumorale (Sneaking through) — 667
 - 22.3.9. Alte mecanisme de scăpare — 668
- 22.4. Teoria imuno-reglării defectuoase în patogeneza malignităților limfocitare — 668
 - 22.4.1. Argumente histo-patologice — 669
 - 22.4.2. Argumente clinice și experimentale — 670
 - 22.4.3. Mecanismele probabile prin care se produc limfoamele și leucemiile — 670
 - 22.4.3.1. Infecțiile cu herpesvirusuri — 670
 - 22.4.3.2. Infecțiile cu oncornavirusuri — 670
 - 22.4.3.3. Dereglarea la T_H și / sau T_S — 671
 - 22.4.3.4. Mecanismul prin care survin anomaliile în cooperarea dintre limfocitele T și B — 672
- 22.5. Ipoteza imuno-stimulării în dezvoltarea cancerului — 674
 - 22.5.1. Stimularea celulelor tumorale de către anticorpi și complement — 675
 - 22.5.2. Stimularea creșterii tumorilor de către limfocitele sensibilizate specific — 676

Istoric. Studiile de imunologie în cancer au început în urmă cu un secol și au avut două țeluri: în primul rând descoperirea elementelor constitutive unice, specific tumorale, decelabile prin metodele foarte sensibile imunologice, în al doilea rând crearea unui vaccin anticanceros. Chiar dacă aceste țeluri ambițioase nu au fost realizate pînă în prezent, s-a reușit să se elucideze, în mare măsură, mecanismele care stau la baza apărării antitumorale.

Retrospectiv, putem spune că primele cercetări au avut un „start” greșit, care a generat multe confuzii. Studiindu-se transplantarea experimentală a tumorilor, s-a constatat că dacă se grefează la un animal B o tumoare provenită de la un animal A, din aceeași specie, în majoritatea cazurilor după o scurtă perioadă de creștere, tumoarea se micșorează și dispare (fig. 23.1.).

Dacă animalului B i se injectează însă, în prealabil, un număr redus de celule tumorale și ulterior se transplantează tumoarea, aceasta nu mai „prinde”, ci este distrusă rapid. Acest fenomen a fost constatat de mai mulți cercetători, astfel că în jurul anului 1920 se considera că animalele pot fi „imunizate” față de o tumoare prin injectarea unui număr mic de celule maligne. În acea perioadă cunoștințele de imunologie proveneau exclusiv din imunologia anti-infecțioasă, în special antimicrobiană, iar interpretarea eronată a datelor experimentale era consecința firească a nivelului științific din acea vreme. S-a conchis că tumorile maligne posedă antigene specifice tumorale, antigene care pot să genereze reacții imune contra lor, deci și contra tumorilor. Prepararea vaccinurilor antitumorale ar fi devenit o simplă problemă de izolare a acestor antigene. S-a încercat deci prin metodele clasice de preparare a vaccinurilor antimicrobiene să se obțină vaccinuri antitumorale. Dar toate încercările au eșuat. A urmat o perioadă de descurajare, care a culminat cu lovitura de grație dată de experiențele care au demonstrat că respingerea tumorilor poate fi realizată nu numai prin injectarea prealabilă a celulelor maligne, ci și prin injectarea celulelor normale, sănătoase, de la animalul A la animalul B (din fig. 22.1.). Deci fenomenul imun de respingere a grefei tumorale nu se dato-

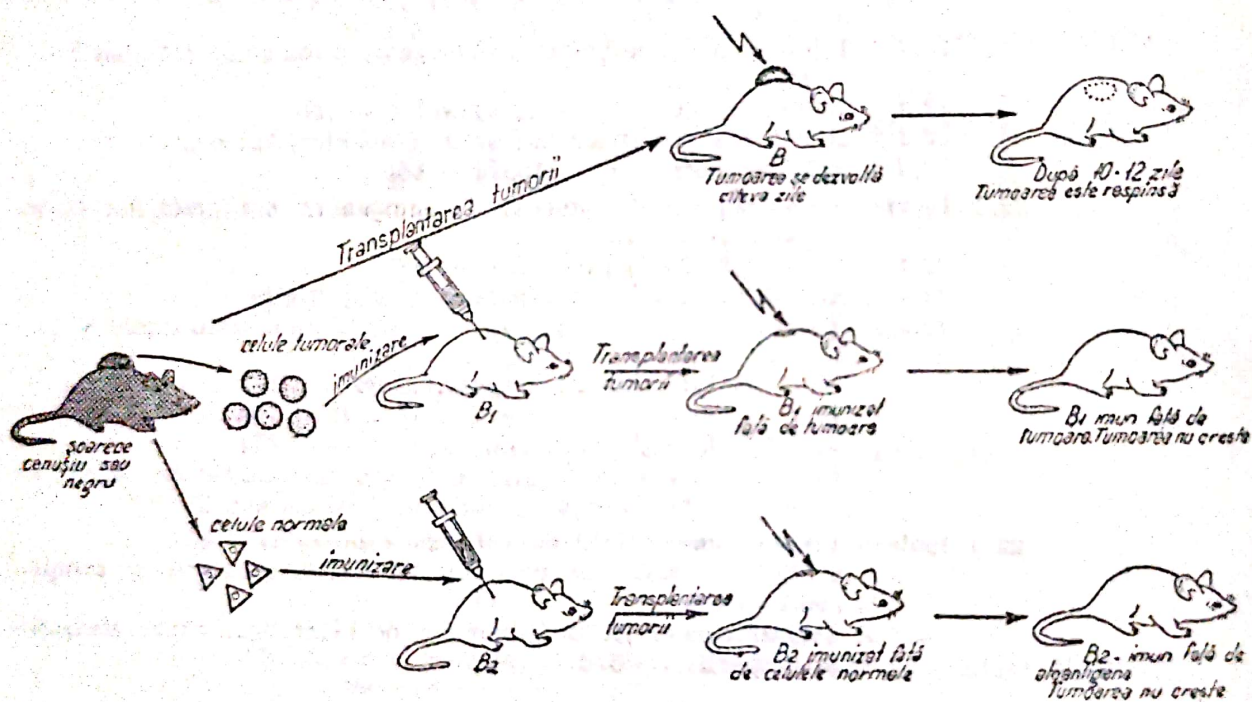


Fig. 22.1. — Răspunsul animalelor la transplantarea tumorilor maligne alogene (provenite de la animalul A)

Sus: respingerea tumorilor de către animalele nelmunizate B (în 10–20 de zile similar cu respingerea grefelor de piele normală); Mijloc: Animalele preimunizate cu celule tumorale (B_1) devin imune la tumoarea corespunzătoare; Jos: animalele preimunizate cu celule alogene normale de la animalul A (B_2) devin imune la tumoarea alogena. Ilustrarea histo-incompatibilității este redată prin culorile diferite ale șoarecilor: șoarecele A donator de tumoare este cenușiu (sau negru), șoarecii primitori al transplantului tumoral (B , B_1 și B_2) sînt albi.

rează unui component specific canceros, deoarece poate fi reprodus și de celulele sănătoase. Contrareacția lumii științifice a fost promptă; s-a conchis că imunitatea nu joacă nici un rol în apariția și dezvoltarea tumorilor.

Deși aceste experiențe de început nu au contribuit cu nimic la cunoașterea imunologiei tumorilor, ele au constituit bazele imunologiei transplantelor. Aceste relații sînt definite foarte plastic de George Klein: „Imunologia tumo-

rilor este bunica și totodată nepoata imunologiei transplantelor". Fără o cunoaștere a caracterelor generale ale imunității de transplantare nu poate fi concepută studierea imunologiei tumorilor.

Toate celulele nucleate dintr-un organism animal posedă anumite componente sau antigene specifice, determinate de structura ereditară și care îl fac unic printre membrii acelei specii. Aceste antigene, numite „de histocompatibilitate” sau de „transplantare”, constituie cartea de vizită care singularizează un individ, la fel ca amprentele digitale în criminologie. Sistemul imun are capacitatea de a recunoaște ceea ce aparține organismului ca propriu (self) și ceea ce îi este străin (non-self), grație acestor structuri antigenice. Străin nu înseamnă neapărat numai agenții infecțioși (bacteriile, virusurile sau paraziții); tot străine sînt și celulele provenite de la alt individ, indiferent dacă este din aceeași specie (alogene) sau dintr-o specie diferită (xenogene) sau chiar celulele proprii ale căror antigene s-au modificat. Sistemul imun reprezintă armata bine instruită, capabilă să lupte împotriva a tot ce este străin, să provoace respingerea țesuturilor străine (de exemplu grefele de piele) sau distrugerea lor (transplante de organe).

Problema centrală a imunologiei tumorilor este: celulele maligne sînt sau nu diferite de cele sănătoase? Cu alte cuvinte, au ele sau nu antigene specifice, tumorale, diferite de antigenelor proprii ale organismului? Căci numai în cazul în care celulele canceroase posedă astfel de antigene pot fi recunoscute ca străine și pot genera un răspuns imun antitumoral. Antigenele specifice tumorale au fost și rămîn încă „piatra filozofală” a imunologiei cancerului. Aparent, la prima vedere, nu se poate elucida problema existenței lor, datorită faptului că orice încercare de evidențiere se lovește de zidul impenetrabil al antigenelor de histo-compatibilitate. Trebuia găsit un model experimental în care ultimele să nu intervină, de exemplu prin realizarea unor transplantări de tumori între doi indivizi identici, deci cu aceleași antigene de histo-compatibilitate. În mod natural, această identitate apare foarte rar, numai la gemenii monoziagoți (univitellini), deci este mai curînd o situație excepțională decît una normală. Pentru a depăși acest impas, cercetătorii au creat linii pure de animale (inbred), prin consangvinizare, adică prin încrucișări repetate, între frate și soră, timp de multe generații (20—50) și printr-o astfel de selecționare a puilor, încît descendenții să devină animale genetic identice (animale izogene sau singene). Fiind identice genetic, posedă aceleași antigene de histo-compatibilitate. Transplantele realizate între două animale provenind din aceeași linie pură nu sînt respinse; sînt tolerate deoarece celulele transplantate nu sînt recunoscute ca străine, întrucît posedă antigene de histo-compatibilitate identice cu cele proprii, ale primitorului. Realizarea liniilor pure a creat instrumentul necesar pentru cercetarea adecvată a antigenelor specifice tumorilor. Utilizînd acest instrument de lucru, Snell începe să studieze grefele tumorale, reușind însă să descopere... legile generale ale histo-compatibilității. Din nou, cercetările de imunologie a cancerului au dus la elucidarea imunologiei transplantelor.

Prima dovadă reală privind existența antigenelor tumorale este adusă abia în 1943 de Ludwig Gross, care a utilizat în cercetările făcute un sarcom indus prin carcinogeneza chimică (cu metilcolantren) la animale din linia pură C3H. Sarcomul poate fi transplantat cu succes la animale din aceeași linie pură. Gross a demonstrat, din păcate pe un număr mic de animale, că se poate obține o imunizare față de tumoare dacă se injectează în prealabil un număr mic de

celule canceroase, insuficient pentru a induce sarcomul (fig. 22.2). Animalele imunizate astfel devin rezistente la transplantarea ulterioară a unui număr mare de celule sarcomatoase. Concluzia era că celulele canceroase posedă antigene străine.

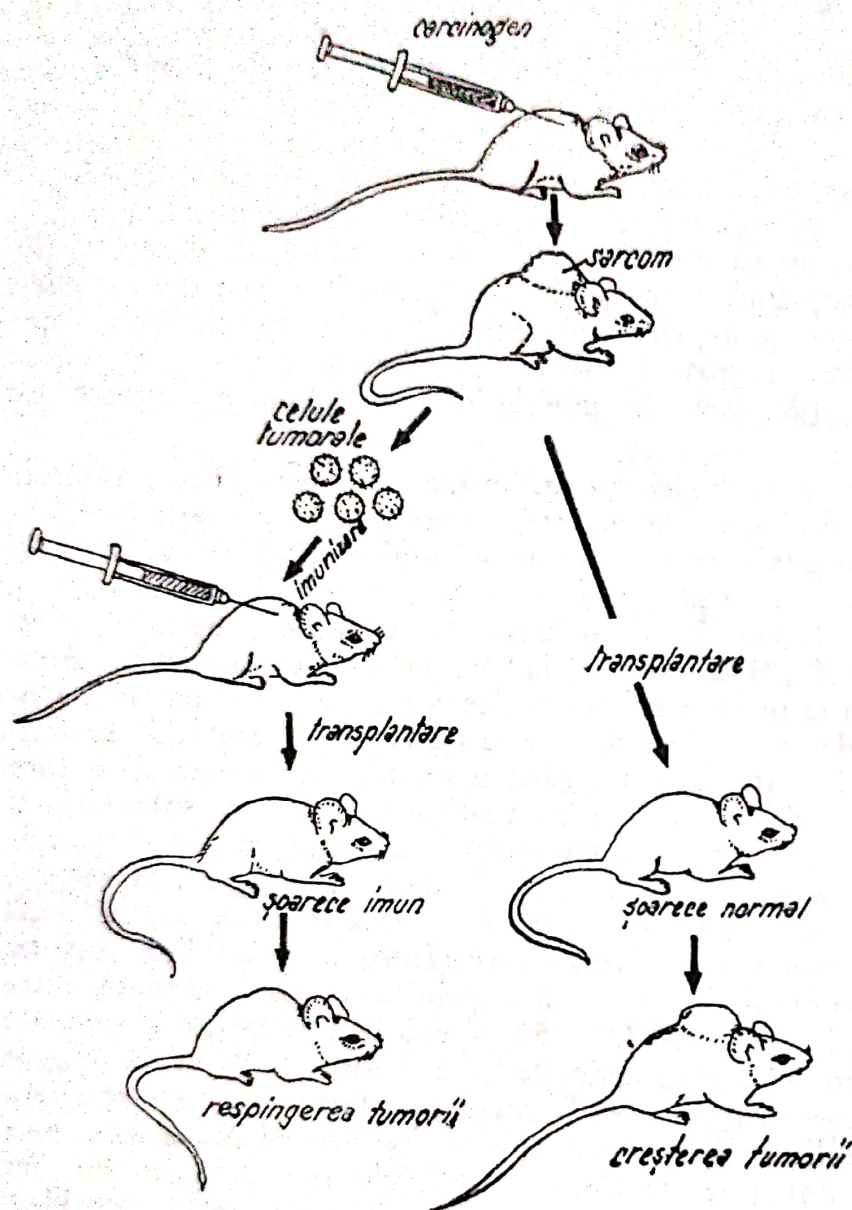
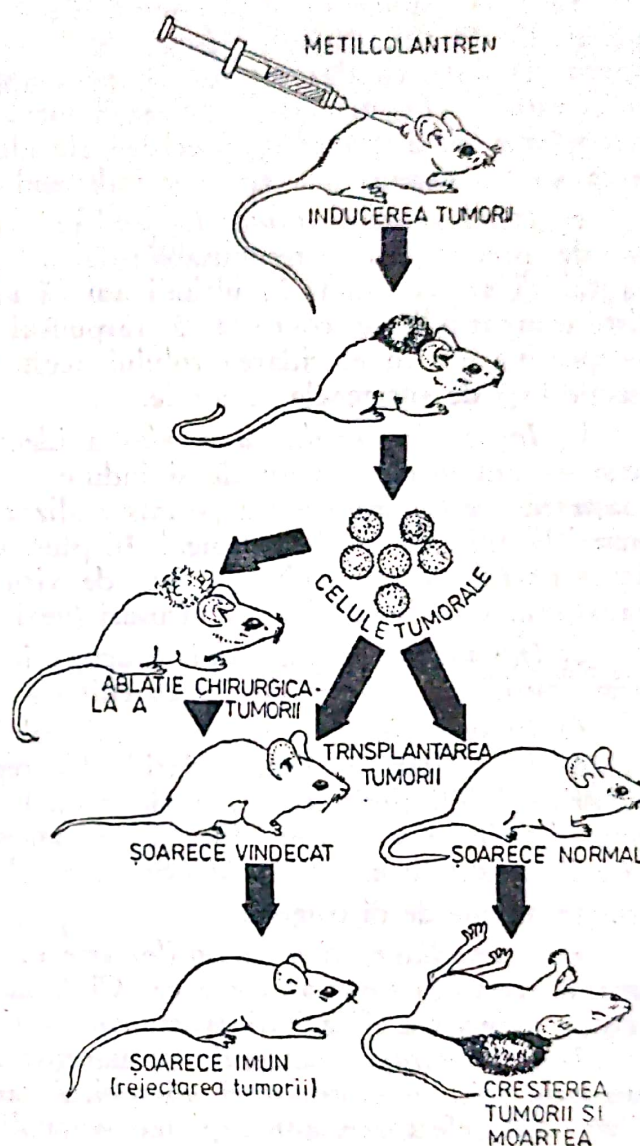


Fig. 22.2. — Demonstrarea existenței reacțiilor imune antitumorale pe șoareci singeni. Transplantarea unei tumori indusă chimic (metilcolantren) la șoarecii normali este urmată de dezvoltarea tumorii (nu se obține respingerea tumorii la 10—20 zile ca în sistemul alogen). În cazul preimunizării animalelor cu celule tumorale (stînga) se obține respingerea tumorii.

În acea perioadă de pesimism general, cercetările lui Gross nu au stîrnit nici un interes. Au trecut încă 10 ani pînă cînd Edward J. Foley să aducă un nou argument în favoarea existenței antigenelor tumorale, tot cu o tumoare indusă prin metil-colantren la animale singene (fig. 22.3.) Injectarea celulelor tumorale determină apariția unei tumori care creștea continuu pînă la moartea animalului. Dacă după o scurtă perioadă de timp tumoarea era îndepărtată chirurgical, animalul devenea rezistent la o nouă transplantare, la a doua injectare de celule tumorale. Argumente similare sînt aduse în 1955 de Baldwin (din Anglia), dar nu apare nici o revitalizare a imunologiei tumorale pînă în 1957, anul apariției lucrării lui Richmond Prehn și John Main. Acești cercetători, care lucrau în laboratorul lui Snell, reușesc să demonstreze indubitabil că tumorile induse chimic au antigene tumorale specifice. Această demonstrație

a fost făcută în urma unui şir de experienţe care constituie un model de logică ştiinţifică (să nu se uite că erau membrii laboratorului care a formulat legile generale ale transplantării). Pornind de la confirmarea experienţei lui Foley,

Fig. 22.3. — Inducerea imunităţii antitumorale prin ablaţia chirurgicală a transplantului tumoral (la 10 zile după grefare). În stînga, respingerea celui de al doilea transplant provenit din aceeaşi tumoare de către animalele imune. La şoarecii neimunizaţi transplantarea celulelor canceroase duce la dezvoltarea tumorii şi moartea animalului (dreapta) (Old, 1977, modificat).



pe un fibrosarcom (indus tot cu metilcolantren) şi aprofundînd problema, au demonstrat că:

- şoarecii cărora li s-a extirpat tumoarea devin rezistenţi la o nouă transplantare a aceleiaşi tumori (experienţa lui Foley);
- ţesuturile normale nu pot conferi rezistenţă la tumoare;
- şoarecii deveniţi rezistenţi faţă de fibrosarcom acceptă transplantele de ţesuturi normale, chiar dacă acestea provin de la animalul donator de tumoare.

Dacă ţesuturile normale singenice nu sînt respinse, chiar dacă provin de la animalul de la care s-a transplantat tumoarea respinsă, înseamnă că antigenele de histo-compatibilitate nu joacă nici un rol, ci tumoarea însăşi posedă antigene străine capabile să declanşeze o reacţie imună. Există deci antigene tumorale specifice. „Dacă transplantarea tumorilor a dat naştere, în mod

straniu și neașteptat, imunologiei transplantelor, se pare că aceasta din urmă a ucis inițial imunologia tumorală, pentru ca ulterior tot ea să o reînvie" (Klein, 1980).

Se poate spune că deși imunologia cancerului este foarte tânără, avînd numai 25 de ani, drumul parcurs în acest timp scurt a fost foarte lung și sinuos. O dată cu dezvoltarea ei, prin aprofundarea problemelor, s-au desprins ramuri noi, care deși utilizează metodele imunologice de cercetare prin combinarea cu alte metode specifice ale altor specialități, au determinat nașterea acestor ramuri noi, aproape independente (L.J. Old, 1981):

a) *Imunogenetica tumorală* studiază genele care codifică antigenele tumorale, precum și cele responsabile de susceptibilitatea organismului la cancer. Faptul că s-a constatat în ultimii ani că unele gene din complexul major de histo-compatibilitate controlează răspunsul imun al organismului, a deschis perspective noi în elucidarea rolului acestor gene în apariția sau în lipsa de reacție față de antigenele tumorale.

b) *Imunovirusologia cancerului* a identificat antigenele virusurilor oncogene — antigenele structurale și induse — prezente în celulele maligne. Cunoașterea acestor antigene a permis realizarea studiilor sero-epidemiologice nu numai la animale, ci și la oameni. În plus, s-au făcut pași importanți în elucidarea naturii reacțiilor imune față de virusurile oncogene și față de celulele transformate malign de aceste virusuri (vezi oncogeneza virală).

c) *Imunochimia cancerului* se ocupă în mod special de identificarea, izolarea, purificarea și caracterizarea chimică a antigenelor tumorale.

d) *Imunobiologia* studiază factorii celulari și umorali implicați în reacția imună: limfocitele cu subpopulațiile lor reglatoare și efectoare, macrofagele, factorii solubili (limfokine, monokine etc.). În plus, cercetează relațiile dintre imunodeficiențe și susceptibilitatea la cancer. Un domeniu major de investigație îl constituie mecanismele prin care celulele canceroase „scapă” de atacul armatei imune de distrugere.

e) *Imunodiagnosticul tumorilor* este ramura care a pătruns deja în clinica umană. Testarea unor antigene ca: CEA sau alfa-feto-proteina este larg utilizată în aprecierea eficacității tratamentelor și în depistarea recidivelor tumorale.

f) *Imunoterapia cancerului* urmărește amplificarea reacțiilor imune anti-tumorale prin imunoreglatori microbieni sau sintetici, prin limfokine, monokine, celule efectoare, anticorpi monoclonali sau antigene tumorale.

g) *Imunoprevenirea cancerului* este ramura care a dus la rezultatele cele mai spectaculoase. Prin crearea unor vaccinuri a reușit să prevină apariția unor leucemii aviare și bovine de origine virală.

Așa cum am mai arătat, startul real a fost dat de cercetările lui R. Prehn, iar punctul central a fost și a rămas antigenele tumorale.

22.1.

Antigenele tumorale

Antigenele tumorale au fost studiate mai ales la animale, unde existența liniilor pure a permis cercetarea tumorilor experimentale induse chimic sau viral. Pentru evidențierea lor s-au folosit atât metode *in vivo*, cât și *in vitro* (fig. 23.4.).

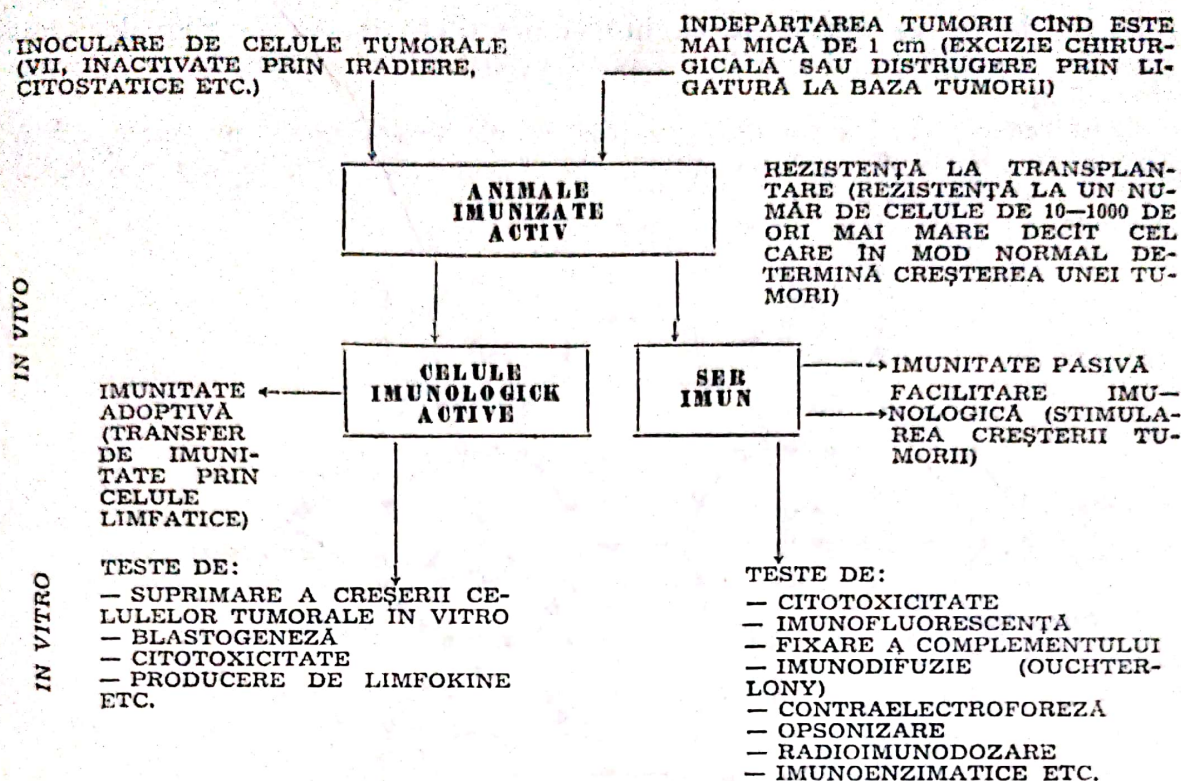


Fig. 22.4. — Metodele cele mai utilizate pentru demonstrarea existenței antigenelor tumorale (Boyse și colab., 1969 — completat).

Cu scop pur didactic vor fi descrise separat antigenele din tumorile induse chimic (cu substanțe carcinogene), viral și din tumorile spontane. Un subcapitol aparte va fi rezervat antigenelor onco-embrionale sau onco-fetale.

22.1.1.

Antigenele tumorilor induse chimic (cu substanțe carcinogene)

O trăsătură caracteristică a acestor tumori este faptul că pe suprafața celulelor maligne există, pe lângă antigenele de histocompatibilitate caracteristice, antigene tumorale. Aceste antigene sînt specifice pentru fiecare tumoră (fig. 23.5.). De exemplu, dacă se induce cu același carcinogen tumori la 10 animale singene (din aceeași linie pură), cele 10 tumori vor fi antigenic deosebite, chiar dacă au același aspect histo-patologic. Fiecare tumoră posedă antigenul ei distinct, care nu reacționează încrucișat cu nici una din celelalte 9 tumori. Mai mult chiar, dacă cu același carcinogen se induce la același animal tumori cutanate în două locuri diferite, cele două tumori vor fi antigenic deosebite. Marea varietate a antigenelor tumorilor induse chimic este evidențiată în cercetările care au arătat că transformarea malignă (prin metilcolantren) a unei singure clone de celule determină apariția a 17 subclone antigenic diferite.

Pentru că evidențierea lor a fost realizată prin procedee de transplantare, aceste antigene au fost denumite antigene de transplantare specifice tumorilor — prescurtat TSTA („tumour specific transplantation antigens“). Aceste antigene sînt localizate pe suprafețele exterioare ale membranelor celulelor

* Aceste antigene mai sînt denumite TATA („Tumor Associated Transplantation Antigens“) sau TARA („Tumor Associated Rejection Antigens“)

maligne, la fel ca antigenele de histo-compatibilitate. La originea lor stau probabil mutațiile, realizate în ADN al celulelor, de substanțele carcinogene (fig. 22.5).

În general, TSTA tumorilor induse chimic sînt antigene puternice, adică generează o puternică reacție imună. Cu cît un carcinogen induce mai rapid

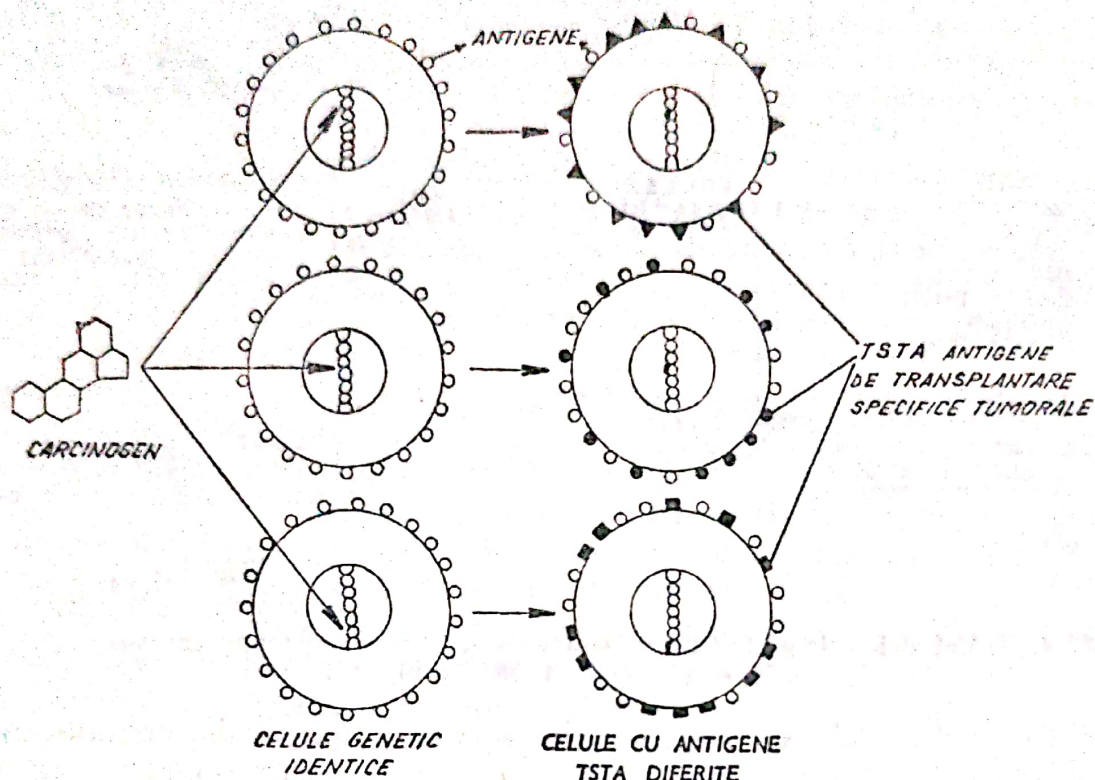


Fig. 22.5. — Reprezentarea schematică a apariției antigenelor de transplantare specifice tumorale (TSTA) în carcinogeneza chimică. Carcinogenul, acționind la niveluri diferite ale genomului celular (ADN), determină apariția unor antigene diferite, chiar în cazul unor celule genetic identice (Old, 1977 — modificat).

formarea tumorilor, deci cu cît perioada de latență este mai scurtă, cu atît antigenicitatea TSTA este mai mare. Tumorile cu o perioadă lungă de latență sau care sînt induse cu doze mici de carcinogen, au o antigenicitate foarte scăzută.

Din cauza eterogenității TSTA, rezistența unui animal față de o tumoare indusă cu un carcinogen nu previne apariția unei tumori indusă de alt carcinogen, chiar dacă cele două tumori sînt morfologic identice. Tumoarea indusă cu un carcinogen nu conferă rezistență nici față de o tumoare indusă cu același carcinogen la alt animal, chiar dacă este singen.

Uneori, în tumorile induse chimic, pe lîngă antigenele amintite pot să apară și unele antigene care reacționează încrucișat cu alte tipuri de tumori. S-a constatat că aceste antigene comune sînt fie antigene onco-fetale, fie antigene virale ale unor virusuri latente sau endogene (tabelul 22.I.).

ANTIGENELE TUMORILOR INDUSE CHIMIC

TABELUL 22.I

- (1) Antigene particulare, unice pentru fiecare tumoare:
 - TSTA (sau: TATA, TARA)
- (2) Antigene comune pentru mai multe tipuri de tumori:
 - antigene onco-fetale reactivate
 - antigene ale virusurilor endogene reactivate

22.1.2.

Antigenele tumorilor induse viral

Spre deosebire de cele descrise anterior, toate tipurile de tumori induse de același virus, indiferent de aspectul lor morfologic, au aceleași antigene (fig. 22.6.). Existența acestor antigene comune pentru diferite tumori este ușor de înțeles, cunoscând faptul că informația genetică responsabilă de apariția lor

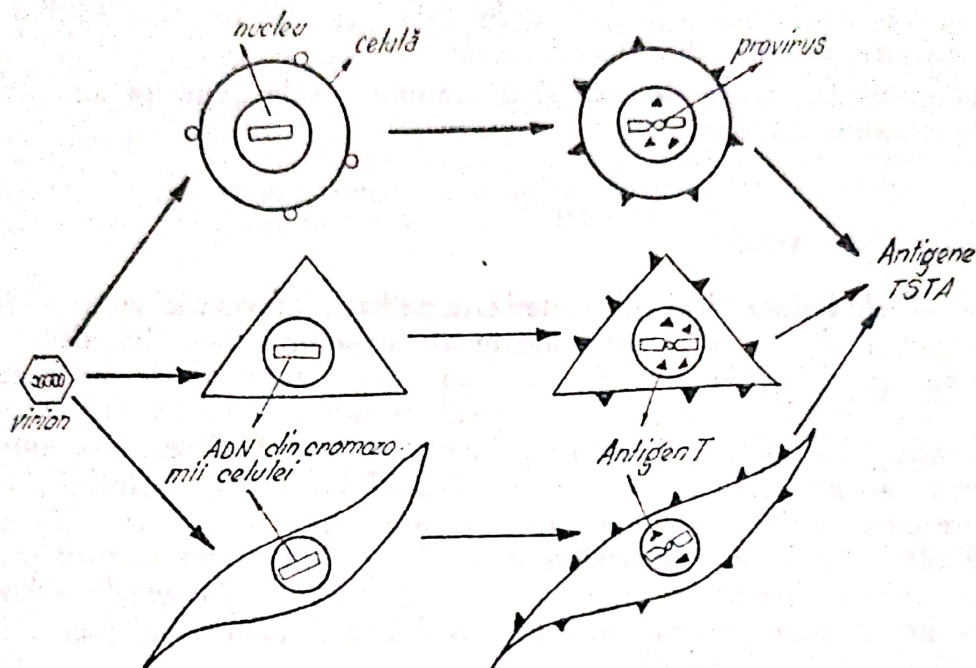


Fig. 22.6. — Schema apariției antigenelor tumorale în carcinogeneza virală. Infecția virală determină apariția unor antigene TSTA identice, chiar dacă morfologic tumorile induse de virus sînt diferite. Pe figură, carcinogeneza prin virus oncogen ADN. Genomul virusului este integrat în genomul celulei sub formă de provirus. În nucleul celulei transformate se evidențiază antigenul T, iar pe membrană, antigenul tumoral specific de transplantare (TSTA).

este conținută în genomul virusului. Această informație este identică în toate celulele infectate cu un anumit virus, indiferent de proveniența acestor celule (de organ sau de individ). Din acest motiv, imunizarea unui animal față de un tip de tumoare va conferi rezistență față de toate tipurile morfologice de tumori induse de același virus. Bineînțeles că nu va determina o rezistență față de tumorile induse de alte virusuri oncogene.

Se știe că tumorile maligne pot fi induse de virusuri oncogene cu ADN sau cu ARN, ceea ce determină existența unor particularități ale antigenelor corespunzătoare (tabelul 22.II).

TABELUL 22. II

ANTIGENELE TUMORILOR INDUSE VIRAL

- (1) Antigene comune induse de virus
 - antigene ale membranei celulare:
 - de transplantare TSTA (TATA sau TARA)
 - producătoare de anticorpi TSSA (TASA)
- (2) Antigene virale structurale, ale virionului (tot comune)
 - antigene citoplasmatică (virusuri ARN)
 - antigene de membrană celulară (virusuri ARN)
- (3) Antigene onco-fetale sau onco-embionare

22.1.2.1.

Antigenele tumorilor induse de virusurile oncogene ADN

Din virusurile oncogene ADN, două familii se comportă similar, adică determină apariția unor antigene similare ca denumire și ca localizare: virusurile Papova și Adeno. Deși au același nume, antigenele sînt strict specifice pentru fiecare virus. De exemplu, antigenele TSTA sau T ale virusului polioma nu reacționează încrucișat cu cele induse de virusul SV40 sau papiloma, deși cele 3 virusuri fac parte din aceeași familie.

Malignitățile induse de cele două familii virale amintite au mai multe clase de antigene diferite.

22.1.2.1.1.

Antigenele induse viral

Antigenele induse viral sînt sintetizate pe baza informației cuprinse în genomul virusului, dar nu sînt componente ale structurii virusului, deci proteine ale nucleocapsidei. Ele pot fi produsul unor gene virale necesare doar asamblării corpului virusului (ca de exemplu enzimele nestructurale implicate în edificarea virionului)*. Este foarte interesant faptul că reacțiile imune dirijate contra acestor antigene nu conferă animalului imunitate antivirală și, invers, prezența anticorpilor antivirali (neutralizanți) nu protejează animalul față de tumoarea indusă cu același virus (la transplantarea tumorii provenită de la un animal singen). În imunologia cancerului, din antigenele induse viral prezintă importanță cele prezente pe membrana celulelor maligne: antigenele TSTA/TATA și TSSA/TASA.

a) *Antigenele TSTA* pot să genereze reacții imune care determină respingerea tumorilor. De obicei, în cazul tumorilor induse de virusuri, TSTA sînt puternic imunogene. Așa cum am mai amintit, deși reacția imună față de ele conferă animalului rezistență la tumoare, nu-l protejează față de o infecție virală productivă. Invers, imunitatea antivirală nu este nici necesară, nici suficientă pentru respingerea tumorilor induse de același virus.

b) *Antigenele de pe suprafața membranelor celulelor maligne TSSA* („tumour surface specific antigens”) sau *TASA* („tumour associated cell surface antigens”) sînt denumiri sinonime ale antigenelor care determină formarea de anticorpi. Din acest motiv, pot fi evidențiate prin metode de imunofluorescență. Există dovezi, cel puțin la unele tumori, că TSTA și TASA sînt antigene diferite, deși sînt induse de același virus și sînt localizate ambele pe membrana celulară.

c) *Antigenul T nuclear* apare în nucleul celulelor tumorilor induse de virusurile Papova și Adeno. Denumirea provine de la „Tumour antigen” — antigen tumoral — sau prescurtat, antigen T**. Acest antigen, al cărui grad de înrudire cu TSTA nu este încă complet elucidat, apare atît în infecțiile pro-

* În literatură apar și sub alte denumiri, vechi, în mare măsură părăsite, ca: neoantigene, antigene T (tumoraie) (a nu se confunda cu actualele antigene T, care sînt antigene nucleare, nu de membrană).

** Antigenul T a mai avut și alte denumiri în literatura de specialitate: neoantigen, antigenul tumoral CF fixator de complement („Complement Fixing”) sau antigenul ICFA („Induced Complement Fixing Antigen”).

ductive, cît și în cele transformante, dar spre deosebire de primele, în care prezența lui este doar pasageră, în ultimele existența lui este permanentă, constituind un adevărat marker al malignității, deci cu importanță diagnostică.

22.1.2.1.2.

Antigenele virale structurale

Antigenele virale structurale sînt întîlnite inconstant, aducînd mai curînd o dovadă a producerii de virus, eveniment rar în transformarea malignă a celulelor prin virusuri cu ADN.

Antigenele structurale au primit diverse denumiri: VCA („viral capsid antigen”) adică antigene ale capsidei virusului, urmată de un număr: VCA₁, VCA₂ etc. În cazurile în care au putut fi indentificate în virion sau în funcție de localizarea intracelulară: antigene C (citoplasmatic) sau U (antigen citoplasmatic și de pe membrana nucleului celulelor tumorale induse prin virusul SV40) sau simplu antigene V (virale).

22.1.2.1.3.

Antigenele onco-fetale

Antigenele onco-fetale vor fi descrise separat, într-un subcapitol.

A treia familie care are ca membri virusuri oncogene ADN este familia herpesvirusurilor. Antigenele tumorilor induse de virusul Epstein-Barr, un herpesvirus incriminat în etiologia unor malignități umane, au fost foarte intens studiate. Au fost descrise mai multe tipuri de antigene:

- EBNA — antigenul nuclear al virusului Epstein-Barr, probabil asemănător cu antigenul T al virusurilor Papova și Adeno;
- MA — antigene ale membranei celulare;
- LYDMA — tot un antigen de membrană recunoscut de limfocitele citotoxice;
- EA — antigene timpurii.

A mai fost descris și un antigen solubil, S sau CFSA (antigen solubil fixator de complement); s-a constatat recent că acesta este identic cu antigenul nuclear EBNA. Uneori pot fi evidențiate și antigene virale structurale (pentru detalii vezi capitolul: Virusurile oncogene umane).

22.1.2.2.

Antigenele tumorilor virale ARN (Oncornavirusuri)

Spre deosebire de cancerile induse de virusurile ADN, în care producerea de virioni este mai curînd o excepție, tumorile induse de virusurile ARN sînt producătoare de virioni. Din acest motiv, celulele maligne posedă 3 categorii de antigene:

- (a) antigene induse de virus;
- (b) antigene virale structurale, componente ale structurii virionului, care pot fi:
 - antigene ale sîmburelui virusului (ale nucleocapsidei);
 - antigene ale anvelopei virusului sau, prescurtat, VEA („Viral Envelope Antigen”);
- (c) antigene onco-fetale.

A doua deosebire o constituie faptul că în tumorile induse prin oncornavirusuri nu a fost decelat un antigen nuclear T (ca la virusurile Papova și Adeno, sau EBNA al virusului Epstein-Barr). Sînt prezente însă antigene pe membrana celulelor tumorale: unele, care determină apariția anticorpilor — antigenele

TSSA/TASA, iar altele cu rol în respingerea transplantelor tumorale — antigene TSTA/TATA, precum și antigene citoplasmatică în interiorul celulei tumorale. Ca și în cazul tumorilor induse de virusurile ADN, la originea acestor antigene se află informația genetică cuprinsă în genomul virusului. Vom deosebi deci:

22.1.2.2.1.

Antigenele tumorale induse de virus

Existența lor a fost demonstrată în ultimii ani (1976—1979). Deși cuprinsă în genomul virusului, informația pentru aceste antigene nu este folosită pentru realizarea unor componente ale structurii virionului. Se pare că aceste antigene funcționează ca TSTA. Ele au fost descrise în leucemia murină, felină și aviară*.

22.1.2.2.2.

Antigenele tumorale virale (structurale)

Antigenele tumorale virale (structurale) apar pe membrana celulelor tumorale, indiferent dacă aceste celule sînt sau nu producătoare de virus. Aceste antigene pot fi glicoproteine (gp) din anvelopa virusului, sau proteine (p) ale simbului virionului care au fost glicozilate și apoi inserate pe suprafața membranelor celulelor tumorale. Ele vor avea aceleași specificități cu antigenele virale structurale: de tip, de grup și interspecii (tabelul 22.III).

TABELUL 22.III

ANTIGENELE STRUCTURALE ALE ONCORNAVIRUSURILOR DE TIP C MURINE (AOKI ȘI SIBAL, 1976)

Proteina	Localizare în virus	Specificitate
gp 70 (gp 69/71)	anvelopă	tip, grup, inter
p 70*	simbure	grup, inter
p 30	simbure	tip, grup, inter
p 15 E	anvelopă	tip, grup, inter
p 12	anvelopă	tip, grup
p 10	simbure	grup

* p 70 este revers-transcriptaza (ADN-polimeraza dependentă de ARN)

Unele antigene ale simbului virionului sînt comune pentru toate oncornavirusurile unei specii de animale și sînt denumite antigene specifice de grup (gs) sau intraspecifice, sau gs₁. Altele sînt comune pentru toate oncornavirusurile de tip C de la mai multe specii, de exemplu de la mamifere — antigenelor interspecifice sau interspecii specifice, ICSA sau gs₂. Antigene similare au fost identificate și pe anvelopa virusurilor (VEA), dar aici există și antigene specifice numai pentru o anumită tulpină individuală de virus — antigene specifice de tip (tabelul 22.III). În ultimul timp, aceste denumiri atît de variate au fost înlocuite cu denumiri bazate pe natura chimică a acestor antigene și greutatea lor moleculară: de exemplu gp 70 (glicoproteină cu greutatea moleculară 70 000) sau p 30 (proteină cu greutatea moleculară 30 000).

* Se pare că MCSA („Moloney cell surface antigen“) din leucemia murină, FOCMA („Feline oncornavirus associated cell membrane antigen“) din leucemia pisicilor și gp 100 din sarcomul aviar sînt antigene induse viral.

Antigenele tumorale virale pot să funcționeze și ele atât ca TSTA, în respingerea transplantelor tumorale, cât și ca TSSA, în inducerea formării de anticorpi.

Deoarece în ultimul timp se fac multe analogii între structura antigenică a leucemiilor umane și cea a leucemiilor murine, considerăm că nu este lipsit de interes să prezentăm succint antigenele ultimelor. O vom face cu un scop dublu: pentru demonstrarea complexității antigenice a celulelor tumorale și pentru a oferi un ghid cititorului interesat de problemele de hematologie, ghid necesar ca să se poată descurca în terminologia, adesea sinonimă, a antigenelor leucemiilor.

Membrana celulelor leucemice murine posedă peste 10 tipuri diferite de antigene, din care cel mai bine studiate sînt:

(a) Antigenele de histo-compatibilitate ale complexului major de histo-compatibilitate (MHC) al șoarecilor, denumit H-2. Deci, celulele leucemice posedă aloantigenele locusului H-2D și H-2K.

(b) Antigene de diferențiere ale limfocitelor, denumite astfel deoarece sînt specifice pentru anumite stadii ale diferențierii funcționale normale a limfocitelor. Genele care le codifică sînt activate numai în anumite stadii ale maturării celulelor. Fiind de tip T (adică ale limfocitelor timus-dependente), leucemiile murine vor posedea antigene Thy-1 (anterior denumite Θ — theta) și antigene Lyt 1, 2, 3.

(c) Antigene ale virusurilor leucemice: GCSA și G IX — GCSA („Gross cell surface antigen“), anterior denumit antigenul Gross sau G, se găsește nu numai pe membranele celulelor leucemice, ci și pe celulele normale provenite de la liniile de șoareci care fac foarte frecvent leucemie (linia AKR sau C58). S-a constatat că acest antigen este înrudit cu două proteine structurale ale simbului leucemiei murine (MuLV) și anume cu p 30 și p 15. Prin glicozilarea acestor proteine (adică completarea lor cu glucide) și inserarea lor ulterioară în membrana celulelor, se realizează GCSA. Celulele normale ale șoarecilor din liniile care au o incidență scăzută a leucemiilor nu posedă GCSA, dar în momentul în care aceste animale fac leucemie sau sarcoame, pe celulele maligne apar GCSA. S-a constatat că toate celulele șoarecilor, indiferent dacă sînt sau nu din liniile care prezintă o incidență crescută a leucemiilor, conțin în genomul lor genomul MuLV sub formă de virus endogen. În mod normal, la șoarecii cu o incidență scăzută a leucemiilor genomul virusului este mut, nu se exprimă, deoarece este reprimat. El poate fi dereprimat de iradiere, carcinogeni chimici sau hormoni, care provoacă apariția GCSA, chiar dacă animalul nu face leucemie. Destul de frecvent antigenul se desprinde de pe membrana celulei și apare sub formă liberă, solubilă — GSA („Gross soluble antigen“).

— Antigenul G IX apare, ca și GCSA, pe suprafața celulelor leucemice murine, dar și pe cea a timocitelor și a limfocitelor T normale ale liniilor de șoareci puternic leucemogene. Celulele leucemice posedă acest antigen chiar dacă timocitele din care au provenit erau lipsite de G IX. S-a constatat că de fapt antigenul G IX este o glicoproteină cu greutatea moleculară de 70 000 (gp 70) din anvelopa MuLV. Pînă la identificarea lui G IX a fost considerat ca fiind un antigen de diferențiere similar antigenului TL. Astăzi se știe că această glicoproteină structurală a anvelopei MuLV, gp 70 este de fapt antigenul G IX. În ultimul timp se pare că au fost puse în evidență 4 tipuri de antigene gp 70: G IX și G (RADA-1) aparțin MuLV ecotrop, G (ERLD) — MuLV xenotrop și G (ASKL-2) MuLV amfotrop (vezi virusurile oncogene).

(d) A patra categorie de antigene au fost descrise de Boyse și colab. sub numele de TL („thymus-leukemia“), deoarece apar pe celulele leucemice și timocitele normale ale unor linii de șoareci. Liniile de șoareci care prezintă antigenul TL pe timocitele lor sînt liniile TL-pozitive (TL⁺), iar liniile fără acest antigen sînt TL-negative (TL⁻). Celulele leucemice sînt totdeauna TL⁺, indiferent dacă provin de la animalele care anterior leucemizării au fost TL⁺ sau TL⁻. Antigenul, sau mai curînd antigenele TL [deoarece sînt trei TL (-1, 2 și 4)], sînt codificate de un locus genetic din cromozomul 17 în apropierea genelor de histo-compatibilitate H-2.

La liniile de șoareci TL⁺ funcționează ca un antigen de diferențiere (ca Thy-1 sau Lyt), deoarece este prezent numai pe timocite. La animalele TL⁻ apare ca un antigen specific tumoral, deoarece genele care îl codifică sînt în mod normal mute, derepresia lor avînd loc numai în celulele malignizate, în celulele leucemice. În legătură cu acest antigen s-a descoperit fenomenul denumit „modulație antigenică“. Dacă șoarecii leucemici provin dintr-o linie TL⁻, ei pot să producă anticorpi anti-TL, deoarece antigenul este ceva străin. După apariția acestor anticorpi, celulele leucemice în mod surprinzător devin TL-negative. Dacă aceste celule leucemice TL-negative sînt injectate la animale singene normale (deci tot TL-negative), se constată reapariția antigenelor TL pe celulele transplantate și persistența acestora pînă în momentul

în care șoarecii primitori sintetizează și ei anticorpi anti-TL. Deci, antigenele TL au proprietatea de a dispărea de pe suprafața celulelor dacă sunt expuse la anticorpi anti-TL.

(e) Pe suprafața celulelor leucemice au mai putut fi puse în evidență: antigene onco-fetale, antigene înrudite cu cele ale virusului adenocarcinomului mamar murin, antigene de specie (MSTA), antigene de histo-compatibilitate anormale, antigene unice, antigene ale MuLV specifice de transformare și antigene ale idiotipurilor imunoglobulinelor (fig. 22.7).

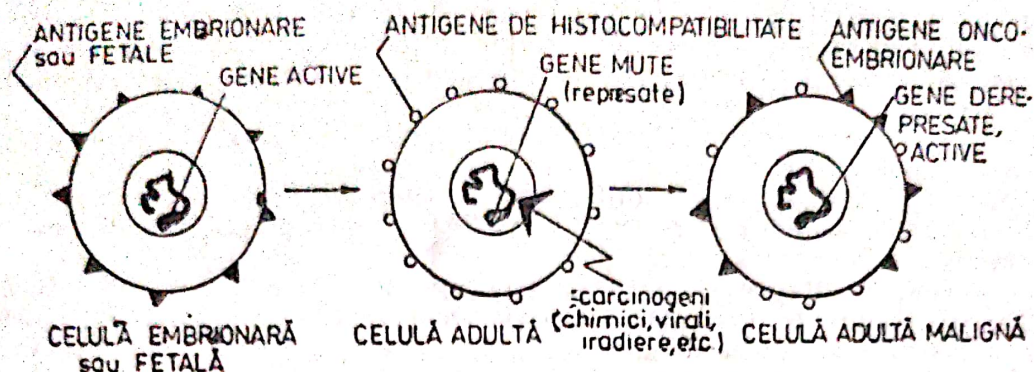


Fig. 22.7. — Mecanismul probabil prin care se realizează reapariția antigenelor embrionare. Unele gene sînt active în viața embrionară sau fetală (stînga), dar sînt represate (mute) în viața adultă (mijloc). Derepresia acestor gene, în urma malignizării celulei, determină reapariția antigenelor embrionare — antigene onco-embriolare sau onco-fetale (dreapta).

Din această succintă trecere în revistă a antigenelor prezente pe celulele leucemice murine reiese clar marea lor varietate, precum și faptul că în fond nici unul din antigenele enumerate anterior nu este absolut specific pentru leucemie (în sensul că nu ar putea fi întîlnite niciodată pe nici o celulă normală).

22.1.3.

Antigene onco-fetale sau onco-embriolare

A treia categorie mare de antigene descoperite în tumorile maligne sînt antigenele fetale sau embrionare, prescurtat OFA („onco-fetal-antigens”), codificate de informația existentă anterior malignizării în genomul celulei, nu de informația adusă din exterior (ca în oncogeneza virală) sau de modificarea genomului (prin mutațiile determinate de carcinogeni chimici). Deși prezente tot timpul în genomul celulelor, genele care codifică această informație nu sînt active decît în ontogeneză, în stadiile embrio-fetale ale dezvoltării organismului. Ulterior, activitatea lor nefiind necesară, genele sînt reprimate,

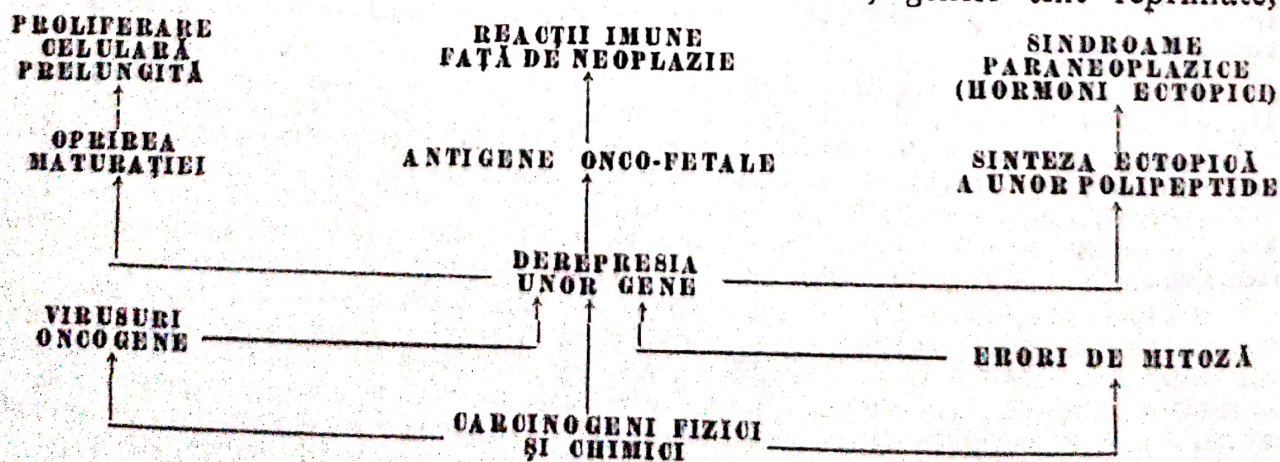


Fig. 22.8. — Acțiunea virusurilor oncogene, a carcinogenilor fizici și chimici sau a erorilor din procesul de mitoză celulară poate duce la derepresia unor gene în mod normal mute, derepresie care joacă un rol central în malignitate (Frenster, 1973, 1976).

devenind „mute“. S-a observat că dacă celulele se malignizează — prin iradiere, carcinogeni, virusuri oncogene sau spontan — are loc o derepresie, o activare a acestor gene, care încep să funcționeze din nou (fig. 22.7.). Derepresia unor gene, în mod normal mute, este un fenomen destul de frecvent întâlnit în malignitate; ea explică sinteza ectopică de hormoni sau enzime fetale din unele tumori (vezi capitolul de biochimie a cancerului) (fig. 22.9).

Se pune problema: aceste antigene sînt sau nu considerate străine de către organism? Pot ele sau nu să declanșeze o reacție imună? Datele experimentale sînt divergente. Încă în 1906, Schöne a constatat că dacă se injectează țesuturi embrionare la șoareci, unii din aceștia dobîndesc capacitatea de a fi

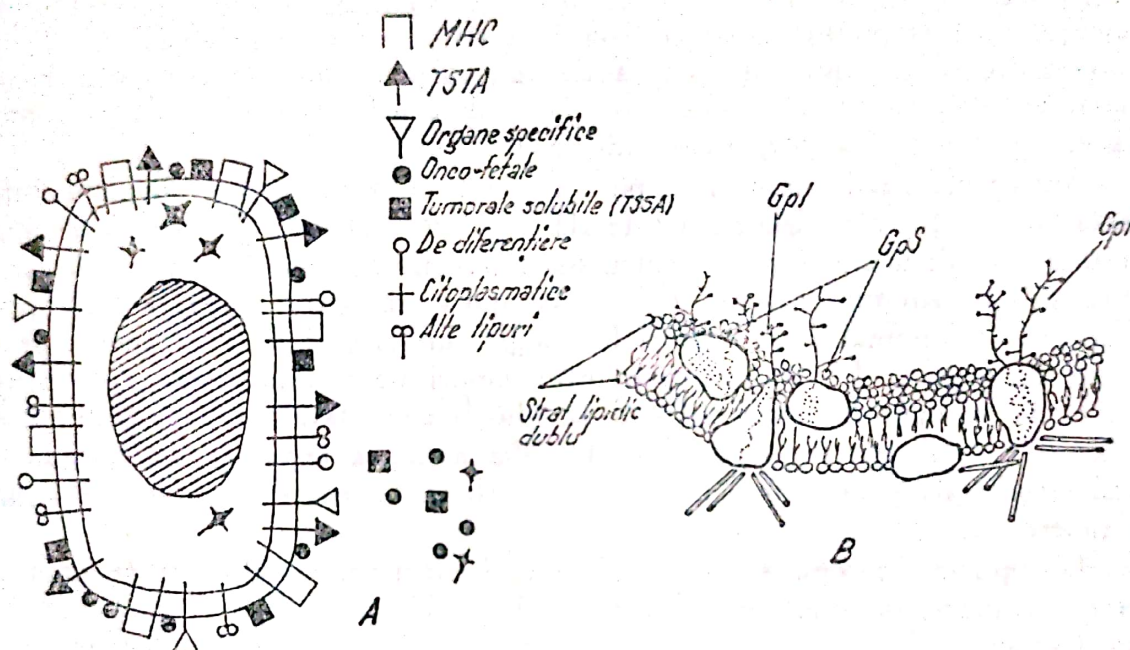


Fig. 22.9. — Eterogenitatea antigenelor de pe celulele tumorale.

A. Reprezentarea schematică a multiplelor tipuri de antigene de pe celula malignă (MHC—de histo-compatibilitate; alte antigene = antigene de grup sangvin, Forssman componenți serici aderenti la celulă etc.). B. Modelul membranei celulare (Singer și Nicholson, 1975): dublul strat lipidic și antigenele glicoproteice. Unele antigene traversează membrana celulară (GpI), fiind denumite glicoproteine integrale (de exemplu, antigenele de histo-compatibilitate sau TSTA). Acestea pot constitui ținta reacțiilor de respingere sau de citotoxicitate. Alte antigene (GpS) sînt numai la suprafața membranei și se exfoliază ușor (de exemplu antigene onco-fetale, solubile sau de suprafață). Acestea nu constituie ținta unor reacții citotoxice eficiente, iar prin exfoliere pot să blocheze chiar aceste reacții.

rezistenți la transplante tumorale care în mod obișnuit i-ar fi omorît. Mult mai târziu, în 1967, Buttle și colab. demonstrează, de data aceasta pe animale singene, că injectarea de celule hepatice embrionare inhibă dezvoltarea transplantelor de sarcoame și atribuie această inhibiție unei reacții imune. Treptat, s-a constatat că imunizarea cu celule fetale este uneori eficientă atît în tumorile induse chimic, cît și în cele virale, alteleori nu. Indiferent dacă imunizarea este sau nu eficientă, tumorile au antigene onco-fetale. Prezența lor a putut fi demonstrată *in vitro* cu antiseruri față de celulele embrionare. Coggin și Anderson au arătat că antiserurile, adică serurile care au anticorpi anti-celule embrionare (provenite de la multipare sau de la animalele imunizate cu țesuturi fetale), reacționează cu o mare varietate de tumori. Invers, serurile anti-celule maligne reacționează cu unele celule embrionare.

Mult timp s-a crezut că antigenele fetale apar în perioada adultă numai în malignizare. În 1976 Jerry și colab. au arătat că sînt prezente și în con-

diții normale în unele celule hematopoietice din măduva oaselor. Proportia celulelor cu antigene embrionare crește în unele situații caracterizate printr-o proliferare rapidă, anormală, a celulelor, ca în deficiențe de vitamină B₁₂ sau fier. În plus, chiar cultivarea *in vitro* a celulelor normale adulte determină apariția unor astfel de antigene. Deci, se pare că practic toate celulele care se divid rapid pot să aibă antigene fetale, fapt care poate să explice existența anticorpilor față de ele la persoanele adulte normale (indiferent dacă au avut sau nu o graviditate recentă).

Toate aceste date pledează pentru imunogenitatea acestor antigene, pentru faptul că sînt considerate de sistemul imun al animalelor adulte ca străine. Atunci, de ce nu sînt totdeauna eficiente în apărarea antitumorală? Nu se cunoaște încă răspunsul exact. Există însă date experimentale care arată că aceste antigene nu sînt capabile să dea un răspuns imun mediat celular, ci numai umoral. În plus, s-a constatat că se desprind foarte ușor de pe membranele celulelor maligne, exfoliindu-se permanent.

Antigenele fetale exprimate pe celulele canceroase au fost denumite de Alexander în 1972 antigene onco-fetale prescurtat OFA*. Ele pot fi de mai multe categorii: unele comune pentru toate tipurile de țesuturi, altele însă specifice pentru anumite organe. Din acest motiv, se obțin reacții imunologice încrucișate nu numai între tumori histologic similare, ci și între tumori provenite din țesuturi diferite sau chiar între tumori ale aceluiași organ, provenite însă de la animale din specii diferite. În plus, s-a constatat că antigenele onco-fetale diferă în funcție de stadiul de diferențiere a țesutului malign sau a celui embrionar. Ele diferă și în funcție de originea țesuturilor: endo-, ecto- sau mezodermică.

Din punct de vedere imunologic este importantă localizarea celulară a acestor antigene onco-fetale: pe membrană sau intracelular (fig. 22.9.). Datorită localizării lor diferite, OFA pot genera, cel puțin teoretic, răspunsuri imune diferite:

- antigenele de pe membrana celulelor, dacă sînt recunoscute ca străine, pot provoca o reacție de respingere a tumorii (OFA de transplantare);
- cele intracelulare, fiind la adăpost de mecanismele de recunoaștere imună, nu sînt decelate și nu devin ținta unei reacții de distrugere, chiar dacă sînt imunogene, decît în condiții speciale (OFA-autoimune);
- antigenele circulante solubile pot proveni din eliberarea celor intracelulare sau prin desprinderea celor de pe membrană. Ele nu afectează prea mult soarta tumorii, deoarece nu rămîn cantonate la locul producerii lor. Deși sînt puțin semnificative în apărarea antitumorală, au un rol important în diagnosticul la distanță al malignității. Prezența lor în sînge poate fi evidențiată ușor cu anticorpi specifici, obținuți de obicei prin imunizarea altor specii de animale. Aceste procedee de imunodiagnostic au fost și sînt larg utilizate în oncologia umană. Din acest motiv, merită să fie trecute în revistă cele mai studiate antigene onco-fetale (tabelul 22.IV).

* În literatură pot să apară și sub numele de antigene fetale sau embrionare asociate tumorilor sau TADA (Tumour Associated Developmental Antigens) termen mai larg ce cuprinde toate antigenele care apar numai în anumite stadii ale diferențierii și maturării celulelor.

Antigenul carcino-embriionar (CEA)
 Alfa-1-fetoproteină (AFP)
 Gamma-fetoproteina (Gamma FP)
 Alfa-2-II-globulina sau Alfa-2-feroglobulina hepatică (α_2 H—Fe)
 Sulfo-glicoproteina fetală (FSA)
 Antigenul beta-onco-fetal (BOFA)
 Antigenul gamma-fetal (γ —FA)
 Antigenul fetal comun (CoFA)
 Prealbumina-1-umană embrionară (EPA-1)
 Globulina T (TAL)
 Antigenul onco-fetal-pancreatic (POA)
 Antigenul polipeptidic tisular (TPA)
 Antigenul Tennessee (Tennagen sau TAG)
Alți markeri tumoralii evidențiabili prin teste imunologice:
 Gonadotrofina corionică umană (HCG)
 Izoenzima II a galactozil-transferazei (GT-II)
 Fosfataza alcalină placentară (Izoenzima Regan)
 Fosfataza acidă prostatică
 Izoenzima serum creatinkinazei BB (CK-BB)
 Aldolaza fetală
 Transferaza dezoxinucleotidică terminală (TdT)
 Hemoglobina F

23.1.3.1.

Antigenul carcino-embriionar (CEA)

A fost identificat în 1965 de Gold și Freedman în adenocarcinomul de colon uman. Aceiași autori au constatat că deși acest antigen nu este prezent în colonul adult normal, el există în țesuturi embrionare: în ficatul, pancreasul, intestinul normal uman din primele două trimestre ale gestației (luna II—VI). Din acest motiv, l-au denumit antigen carcino-embriionar (CEA) („Carcino-Embryonic Antigen“).

CEA a fost primul antigen onco-fetal descris la om. Ulterior s-a constatat că și alte antigene embrionare dau reacții încrucișate cu țesuturile maligne, deci există mai multe antigene carcino-embrionare. S-a propus ca antigenul descoperit de Gold și Freedman să fie denumit mai corect antigen embrionar al colonului, prescurtat tot CEA („Colon Embryonic Antigen“). Din cauza erorilor frecvente generate de inițialele identice — CEA — precum și datorită folosirii frecvente în clinică a vechiului nume — antigen carcino-embriionar — s-a preferat introducerea unui termen nou: antigene onco-fetale sau onco-embrionare, care să definească totalitatea antigenelor embrionare decelabile în tumorile maligne. Există însă lucrări în literatura de specialitate, înainte de 1972, în care este folosit termenul de antigene carcino-embrionare pentru toate antigenele onco-fetale.

Inițial s-a crezut că CEA este specific numai pentru tumorile derivate din endoderm: esofag, stomac, intestin subțire, colon, rect, pancreas și ficat. Ulterior, datorită perfecționării unor metode foarte sensibile de dozare — tehnica radio-imună (RIA) („Radio-Immuno Assay“) — s-a constatat că CEA poate să apară și în tumori de origine ecto- sau mezodermică. El este prezent în 70% din cancerule pulmonare, 50% din cele tiroidiene medulare, 60—75% din cele ovariene, de col uterin sau de vezică urinară, 40—50% din cele mamare, 39—50% din cele prostatice, în neuroblastoame, plasmocitoame și osteosarcoame. În plus, s-a văzut că poate să apară în multe afecțiuni necanceroase ca: boli hepatice, ciroza alcoolică (60—70%), inflamații intestinale, colită ulcerativă (35%), diverticulite, pancreatite (50—55%), uremie (45%), chiar la fumători sănătoși (20%) sau la copiii iradiați. Prezența CEA

nu este deci specifică pentru cancer. Treptat, s-a ajuns la concluzia că acest antigen nu trebuie considerat ca un indice calitativ, ci doar ca unul cantitativ, în sensul că la 91% din persoanele normale nivelul seric al CEA nu depășește 2,5 ng/ml, iar în afecțiunile netumorale este de obicei sub 10 ng/ml. În cancer, în special cu metastaze la distanță, apar frecvent valori mult peste 10 ng/ml, dar, din păcate, în cele localizate sau cu metastaze loco-regionale nivelurile serice variază între 2,5 și 10 ng/ml. Din acest motiv, CEA nu poate fi folosit ca test de screening (de depistare) în masă a cancerului. Testarea lui este foarte utilă în prognosticul și în aprecierea eficacității tratamentului din cancerele de colon, intestin, pulmonare, mamare, pancreatice, renale și neuroblastome. Astfel:

- nivelurile preoperatorii ale CEA pot să indice stadiul bolii: bolnavii cu valori sub 5 ng/ml (sau sub 2,5 ng/ml) au de obicei o evoluție bună (în special în cancerele de colon);

- dacă nivelurile preoperatorii au fost mari, dar scad la 2—14 zile după operație la valori normale, este un semn că tumoarea a fost rezecată în întregime. Persistența nivelurilor ridicate indică fie o rezecție incompletă, fie prezența metastazelor;

- două creșteri succesive ale CEA, care postoperator a fost normal, este un semn de recurență a tumorii, indiciu ce precedă uneori cu 36 de luni apariția semnelor clinice de metastazare;

- nivelurile CEA pot furniza indicații prețioase în aprecierea eficacității radio- și chimioterapiei la bolnavii cu metastaze sau cu tumori recurente.

Anticorpii anti-CEA au fost identificați în serul a două categorii de persoane: la gravide — în primele două trimestre ale sarcinii (80%) și la bolnavii cu cancer digestive (70%), dar fără metastaze. După apariția metastazelor se pare că anticorpii dispar. Încă nu se știe dacă această dispariție este cauza sau efectul metastazării, după cum încă nu este clar dacă acești anticorpi au sau nu un rol antitumoral. Până în prezent nu s-a reușit să se elucideze dacă CEA poate să inducă un răspuns imun mediat celular.

În ultimii ani s-au făcut studii intense de izolare și purificare a CEA. S-a constatat că este o glicoproteină cu greutate moleculară de aproximativ 200 000 de daltoni, cu coeficientul de sedimentare 7—8 S, care migrează electroforetic în zona beta-globulinelor. Cantitatea de glucide variază între 80% (CEA de origine gastrică) și 40% (CEA din cancer de colon), ceea ce poate explica eterogenitatea diverselor preparate de CEA. Această eterogenitate se pare că stă la baza lipsei de specificitate a antigenului. În ultimii 5 ani au fost descrise 12 antigene care reacționează încrucișat cu CEA, din care șase se pare că sînt imunologic identice. Aceste antigene apar în literatură sub diverse prezentări: NCA („Nonspecific Cross reacting Antigen”), ca: NCA-2 („Normal Colon Antigen”), NGP („Normal Glicoprotein”), CCA-III („Colon Carcinoma Antigen-III”) și CEX („Carcino-Embryonic X”) sau alte antigene: FSA („Fetal-Sulphoglicoprotein”), MTA („Membrane Associated Tissular Auto-antigen”), BCGP („Breast Cancer Glycoprotein”), UCEA-1 și UCEA-3 („Urethral CEA”). CEA mai reacționează încrucișat cu antigenul prezent pe hematiile din grupa A. Se pare că în ultimul timp s-a găsit o variantă a CEA, denumită CEA-S, care are o specificitate mai mare pentru cancerele de colon decît pentru celelalte forme de cancer, sugerînd că există antigene CEA diferite, cu specificitate de țesut și de tumoare.

22.1.3.2.

Alfa₁-fetoproteina (AFP)

În 1963, Abelev a constatat prezența unei alfa-fetoproteine în hepatomele induse chimic la șoareci, care este antigenic identică cu cea din serul embrionar murin. Un an mai târziu, Tatarinov semnalează prezența alfa₁-fetoproteinei în serul și celulele bolnavilor cu hepatom.

La început au existat numeroase confuzii de terminologie, deoarece după 1944 au fost descrise „fetoproteine” la diverse specii animale, ca urmare a descoperirii (Pedersen) fetuinei, o fetoproteină din serul fetal de vișel. Azi însă este clar că AFP este complet diferită de fetuină, ca și de alfa-fetomacroglobulina din faza acută a infecțiilor sau de alte proteine serice fetale.

AFP este o alfa₁-globulină sintetizată inițial în sacul vitelin apoi în ficatul embrionar, probabil de celulele precursorale ale hepatocitelor. Sinteza ei atinge valori maxime în săptămânile 12—15 de gestație, când apar în serul fetal valori mari, de 3 mg/ml, după care scade treptat, astfel că la nou-născuți concentrația serică este de 50—150 μg/ml, iar la 2 ani 2—20 ng/ml, valori care se mențin și în viața adultă. Aceste cantități extrem de mici pot fi decelate numai prin metode imunologice foarte sensibile, prin teste radio-imunologice (RIA). Nivelurile „normale” mai ridicate au fost găsite la persoane în vârstă sau în anumite zone geografice, în care există o incidență crescută a hepatoamelor.

Creșteri extrem de mari ale AFP au fost constatate la 71—90% din bolnavii cu cancere hepatice primitive de tip hepatocelular. La acești bolnavi nivelurile serice sînt variabile, 0,1—1 mg/ml, deci de aproximativ 100 000 de ori mai mari decît la normali. Concentrația AFP este cu atît mai mare, cu cît tumoarea este mai nediferențiată, cu cît bolnavul este mai tînăr și, bineînțeles, cu cît masa tumorală este mai voluminoasă. Urmărirea AFP furnizează date diagnostice și prognostice privind evoluția bolii.

Niveluri foarte mari, apropiate de cele descrise la hepatoame, au fost găsite la 70—80% din bolnavii cu terato-carcinoame și terato-blastoame. Incidența depinde de vîrstă, fiind mai mare la tineri: 90% la bolnavii sub 15 ani și 20—25% peste 15 ani. AFP nu este crescută de obicei în seminoame, disgerminoame, corioepitelioame sau alte tumori embrionare.

Datorită utilizării metodelor RIA, s-a constatat că aproximativ o treime din bolnavii cu hepatită epidemică acută de tip B prezintă concentrații crescute ale AFP. Niveluri mărite au fost obținute și la bolnavi cu ciroză hepatică, hepatită cronică agresivă și la 1% din cazurile cu alte tipuri de cancere (două treimi din ele aveau metastaze hepatice), dar nu se ridică la nivelurile atinse în hepatoame sau terato-carcinoame.

Creșteri temporare au fost constatate la gravide începînd din primul trimestru al sarcinii și avînd valorile maxime între săptămânile 26 și 36 (100—500 ng/ml). Niveluri mult mai mari apar în sarcinile patologice (concomitente sau precedînd moartea fătului), în anencefalie sau alte malformații ale sistemului nervos al fătului, fiind cel mai util test diagnostic în special în perioada anterioară săptămînii a 21-a.

Niveluri anormal de ridicate ale AFP au mai fost găsite în ataxia telangiectazică, dar nu au fost semnalate în alte imunodeficiențe.

Se pare că organismele umane tolerează AFP, deoarece anticorpi anti-AFP nu au fost constatați decît într-un singur caz, un bolnav cu hepatită acută virală.

22.1.3.3.

Alte antigene

Au mai fost descrise și alte antigene oncofetale solubile, dar sînt mai puțin studiate și nu au intrat încă în uzul clinic curent:

— *gamina-fetoproteina* este o gaminaglobulină descrisă în 1972 de Edynak și colab. în serul și organele fetale de 12—16 săptămîni și la 10% din bolnavii cu diferite forme de

cancer. Spre deosebire de AFP, gamma-FP nu este caracteristică pentru anumite forme sau localizări ale cancerului și poate să apară și în tumori benigne. Foarte rar pot să apară în ser anticorpi anti-gamma-FP;

— *alfa-2-H-globulina* este o globulină eterogenă, cu greutatea moleculară mare, biochimic și imunologic identică cu feritina. Această feroglobulină sintetizată în cantități mari în ficatul fetal, este prezentă la adulți în ser, în cantități mici, de circa 150 ng/ml. S-a constatat că în ficatul bolnavilor cu diferite forme de cancer are loc o sinteză crescută a alfa-2-H-globulinei în 50% din cazuri. Niveluri serice crescute au fost constatate și la 20% din bolnavii cu afecțiuni necanceroase. Totuși, urmărirea alfa-2-H-globulinei poate furniza date privind apariția recidivelor;

— *sulfo-glicoproteina fetală* a fost găsită în 96% din sucurile gastrice ale bolnavilor cu cancere ale stomacului, precum și în tubul digestiv fetal. A fost găsită însă și la 15% din cazurile de ulcer gastric. Se pare că sulfo-glicoproteina fetală este înrudită imunologic cu CEA, deoarece s-au obținut reacții încrucișate;

— *globulina T (TAL)* este de fapt un anticorp împotriva unei glicolipide (probabil citolipida H) de pe membrana celulelor tumorale și trofoblastice. Unii autori susțin că prezența TAL în serul bolnavilor este un indicator foarte specific pentru malignitate;

— *fosfatasa alcalină fetală* (izoenzima Regan), descrisă inițial în placentă, apoi și în țesuturile fetale, este absentă în țesuturile adulte. A fost găsită în ser la 4–12% din bolnavii cu diferite forme de cancere (mai ales ginecologice) și la gravidele sănătoase.

Unele antigene onco-fetale sînt încă subiecte controversate: beta-S-fetoproteina, descrisă de Wada (care se pare că este identică cu proteina C reactivă), alfa-1-lipoproteina (sau antigenul carcino-fetal glial), identificată de Truillas, beta-fetoproteina lui Tatarinov, antigenul polipeptidic tisular (Björklund), antigenul Tennessee (Potter), ca și alte izoenzime fetale sau hemoglobina F.

Din datele expuse se poate remarca faptul că nici unul din antigenele onco-fetale nu este specific pentru tumori. Toate pot să apară (în afara vieții embrionare, unde prezența lor este normală) în viața adultă pe celule normale în anumite situații în care apare o proliferare accentuată, în regenerare sau în situații patologice netumorale. Prezența lor nu este deci neapărat un indicator pentru malignitate. Din acest motiv, ele nu pot fi utilizate în triaje oncologice, variațiile lor cantitative pot da însă indicații prețioase în prognosticul bolii și, mai ales, în urmărirea tratamentului.

22.1.4.

Antigenele tumorilor spontane

Termenul de tumori spontane este utilizat în definirea aceluia grup de malignități care apar sporadic, fără vreo cauză aparentă, în afara oricărei manipulari experimentale. Sînt excluse deci, din această grupă, tumorile care apar spontan la unele linii pure de animale (ca leucemiile la linia AKR sau C58, tumorile mamare la C3H etc.), deoarece aceste linii au fost selecționate artificial, în laborator, tocmai pentru marea frecvență cu care fac anumite forme de cancer.

În literatură se discută mult dacă aceste tumori au sau nu antigene tumorale. Problema este deosebit de importantă, deoarece majoritatea cancerelor umane intră în această categorie. În general se consideră că în aceste tumori nu există antigene specifice tumorale sau dacă da, acestea sînt foarte slabe, neimunogene. Această concepție se bazează pe lucrări mai vechi ale lui Prehn (1963), Baldwin (1966) sau Hammon și colab. (1967), care au demonstrat că tumorile spontane nu pot să inducă reacții imune, adică inocularea anterioară a celulelor maligne la animalele singene nu determină respingerea transplantelor provenite din aceeași tumoare spontană. În 1976 atacul împotriva existen-

tei antigenelor specifice tumorale este reînnoit de Hewitt și colab., care au lucrat cu 27 de tumori spontane provenite de la animale cu incidență mică a cancerului. Autorii au constatat că nu se poate preveni dezvoltarea tumorilor transplantate prin imunizări prealabile repetate, așa cum este posibil în cazul tumorilor induse chimic sau viral. Din acest motiv, autorii presupun că în ultimă instanță reacțiile de respingere obținute pînă în prezent nu sînt altceva decît artefacte experimentale.

S-a constatat că atît tumorile spontane ale animalelor, cît și cancerul uman au antigene onco-fetale. Dacă acestea sînt situate pe membrana celulelor canceroase, ele pot, în anumite condiții, să funcționeze ca TATA. Această afirmație este susținută de faptul că celulele maligne sînt distruse de limfocitele provenite de la animalele gestante normale, sensibilizate la antigenele embrionare, așa cum au arătat Coggin și Anderson în 1974. În plus, valoarea lor în imunizarea față de tumorile induse a fost demonstrată prin posibilitatea prevenirii tumorilor, utilizînd celule embrionare provenite însă numai de la primipare și numai după iradierea sau tratarea celulelor cu un fixator (glutaraldehidă). Aceste antigene pot să inducă deci un răspuns imun, deși sînt slabe, cu condiția să nu fie mascate de anticorpi (cum pare să fie cazul embrionilor de la multipare) și să rămîna pe celulă, respectiv să nu se exfolieze. Experiențele lui Hewitt nu demonstrează neapărat că tumorile spontane sînt inițial lipsite de antigene, deoarece celulele tumorale pot să sufere o modulație antigenică similară cu cea descrisă deja la antigenele TL din leucemiile murine. Lipsa aparentă de antigene tumorale poate fi consecința răspunsului imun al animalului în care s-a dezvoltat tumoarea spontană. În plus, așa cum au arătat unii autori, absența respingerii tumorilor spontane, dacă sînt transplantate, se poate datora ineficienței răspunsului imun, nu lipsei lor de antigenicitate. În concluzie, în momentul de față este imposibil să se afirme cu certitudine dacă în tumorile spontane de la animale există sau nu antigene specifice tumorale.

Situația cancerelor umane este și mai greu de elucidat. La oameni nu există linii pure pentru a se stabili dacă tumorile pot sau nu să fie respinse, ori dacă au sau nu antigene străine. Nu se poate recurge nici la studii familiale, care au clarificat multe probleme imunologice (precum antigenele de histo-compatibilitate și cele de grup sanguin). Chiar dacă există, în cazuri rare, gemeni mono-zigoți, deontologia medicală împiedică studiile experimentale pe oameni. S-a recurs la animale, dar rezultatele obținute au dus la concluzii adesea eronate. Celulele tumorale nu posedă numai un antigen sau numai un sistem de antigene, ci o eterogenitate de sisteme: antigene de histo-compatibilitate, de organ, de diferențiere (tabelul 22.V.). Chiar dacă densitatea acestor antigene este mai mică în celulele canceroase, comparativ cu cele normale (așa cum s-a constatat uneori), ele sînt suficient de puternice pentru a genera anticorpi, spre deosebire de antigenele tumorale, în general slabe. Deci antiserurile produse la animale erau eterogene, conțineau o multitudine de anticorpi, fiecare dirijat împotriva altor antigene. Chiar în cazurile în care s-a reușit să se îndepărteze din aceste antiseruri, prin adsorbții repetate, anticorpii anti-antigene de histo-compatibilitate, serurile imune inițial declarate antitumorale, s-a văzut ulterior că evidențiau de fapt antigenele de diferențiere. În ultimii ani s-a reușit să se descopere o tehnică de fabricare a anticorpilor cu o singură specificitate. Realizarea anticorpilor monospecifici sau monoclonali prin metoda hibridoamelor consti-

tuie o mare cucerire, care va revoluționa imunologia tumorală (fig. 22.10). Se speră să se identifice cu ajutorul lor antigenele tumorale, deoarece sînt un instrument propice pentru disecția și individualizarea antigenelor multiple de pe suprafața membranelor. În 1980—1981 au apărut primele lucrări de analiză

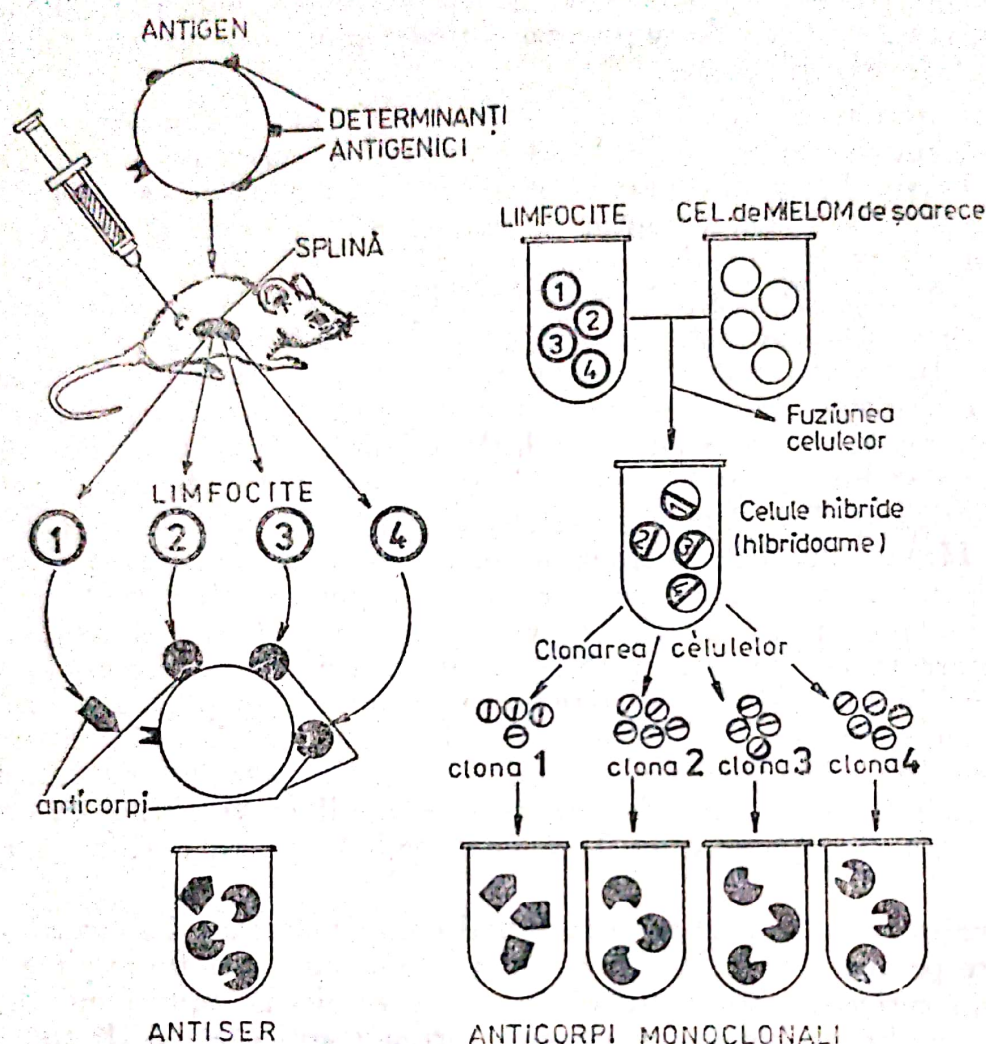


Fig. 22.10. — Reprezentarea schematică a modului de preparare a anticorpilor monoclonali.

Situa: Imunizarea clasică a animalelor cu celule tumorale determină apariția mai multor tipuri de anticorpi, fiecare fiind specific pentru un anumit antigen de pe membrana celulei (de histo-compatibilitate, de organ, TSTA etc.). Deci, antiserul provenit de la animal este format dintr-un amestec de anticorpi cu specificități diferite. **Dreapta:** Fuzionarea (hibridarea) celulelor splenice provenite de la animalul imunizat cu celule de mielom de la un animal singen. Celula hibridă obținută *in vitro* este capabilă să sintetizeze continuu anticorpi cu o singură specificitate (hibridom). După separarea, prin clonare, a acestor celule hibride se obțin culturi de celule care produc anticorpi cu specificitate unică (anticorpi monoclonali) (Milstein, 1980).

cu anticorpi monoclonali a melanoamelor maligne. Lista antigenelor descoperite este în continuă creștere, pînă în prezent fiind deja identificate 9 sisteme: 6 glicoproteice și 3 glicolipidice (fig. 22.11). După cum reiese din figură, nici unul nu este specific numai pentru melanom.

A doua metodă utilizată în cercetarea antigenelor tumorale umane este testarea în combinații autoloage, adică testarea anticorpilor din serul bolnavilor cu cancer față de propria lor tumoră. În cazul în care bolnavii prezintă anticorpi antitumorali, se studiază dacă aceștia reacționează încrucișat cu tu-

mori similare de la alți bolnavi, pentru a se vedea dacă există antigene comune. În combinații autoloage au fost găsiți anticorpi în aproape toate formele de cancer umane: leucemii, limfoame Burkitt, melanoame, cancere mamare, pulmonare, neuro-blastoame etc. Prezența acestor anticorpi a fost considerată

Spectrul celular	Glicoproteine						Glicolipide		
	gp45 (HLA)	gp28,34 (Ia)	gp95	gp150	M19	Ra	O ₅	K ₉ .124	R ₂₄
Melanom									
Cancer epitelial									
Limfocite T									
Limfocite B									
Fibroblaste									
Creier fetal									
Melanocite									

Fig. 22.11. — Antigenele identificate pe suprafața celulelor melanomului malign cu ajutorul anticorpilor monoclonali (Old, 1981). Unele antigene sînt prezente pe toate tipurile de celule testate (HLA, gp 150,05), altele numai pe unele tipuri celulare (Ia, M₁₉, R₈ etc.), iar glicolipida R₂₄ numai pe melanocite și unele celule de melanon. Se remarcă lipsa unui antigen specific tumoral (pentru melanom).

o dovadă a existenței antigenelor specifice tumorale. Deși foarte seducător, acest mod de abordare nu este lipsit de capcane. Colectivul condus de Old într-un studiu elegant și detaliat, care a durat 7 ani și în care a testat 200 de melanoame, astrocitoame și cancere renale, a demonstrat că:

a) 75% din bolnavii cu melanom prezintă anticorpi care se fixează pe celulele tumorale. Din aceștia însă:

b) marea majoritate sînt anticorpi anti-antigene comune prezente nu numai pe celulele tumorale, ci și pe celulele normale ale individului (tabelul 22.V);

c) 5 din 75 de bolnavi prezintă anticorpi care evidențiază antigene comune prezente pe celulele tumorale autoloage și pe tumori alogene;

d) numai 4 bolnavi au anticorpi care reacționează cu antigene unice, prezente numai pe propria tumoare (tabelul 22.V).

TABELUL 22.V

CLASELE DE ANTIGENE DE PE SUPRAFAȚA CELULELOR TUMORALE
DEFINITE PRIN TIPIZARE AUTOLOAGĂ
(OLD, 1981)

Caractere		Distribuție
Clasa 1	Antigene tumorale individuale distincte (unice)	Restrinsă numai la tumoare autoloagă
Clasa 2	Antigene tumorale exfoliate	Prezente pe tumorile autoloage și pe unele celule tumorale alogene
Clasa 3	Antigene normale de suprafață Compozenți serici eterologi	Distribuiți larg, atât pe celule normale, cât și pe celulele tumorale

Prezența anticorpilor antitumoare nu înseamnă deci neapărat că reacția imună este dirijată exclusiv împotriva unor antigene strict tumorale.

Este interesant de semnalat faptul că un antigen evidențiat de acești autori și denumit AH este prezent pe celulele maligne la 70% din bolnavii cu melanom și la toți bolnavii cu astrocitom și este inexistent pe celulele normale. Nu se știe de ce acești bolnavi nu au anticorpi anti-AH.

22.1.5.

Antigene tumorale specifice sau asociate?

Dacă se consideră ca antigene tumorale numai cele care nu apar niciodată pe o celulă normală, rezultă că antigenele descrise, în marea lor majoritate, nu satisfac acest criteriu (antigenele onco-fetale sînt excluse prin definiție, deoarece apar pe celulele embrionare normale, iar antigenele virale din leucemii sau cancerul mamar murin pot să apară și ca antigene ale celulelor normale). Din acest motiv, este foarte greu la ora actuală să se identifice un antigen sau un grup de antigene specific tumorale, introducîndu-se un nou termen unanim acceptat — „antigene asociate tumorilor” (TAA) — care cuprinde antigenele decelate pe celulele canceroase. Aceste antigene pot să apară uneori pe celulele normale, dar prezența sau densitatea lor diferă mult de cea de pe celulele normale.

Antigenele de transplantare TSTA, atît de clar evidențiate în tumorile induse chimic și viral, sînt însă specifice tumorale? Natura lor este controversată, deși studiile detaliate efectuate de mulți cercetători au pus în evidență existența unei legături cu antigenele complexului major de histo-compatibilitate (MHC). Există trei teorii, fiecare bazată pe observații experimentale:

a) teoria „alterării topografice” susține că în malignizare are loc o rearanjare a antigenelor din MHC, rearanjare care devine „străină” pentru sistemul imun. A fost dovedită pe celulele malignizate cu virusul Epstein-Barr;

b) teoria „antigenelor alterate”. Antigenele virale se combină cu antigenele MHC și le modifică în așa fel încît devin străine pentru organism. Mutațiile induse de carcinogeni alterează și ele informația pentru antigenele de histo-compatibilitate. Această teorie are cei mai mulți susținători, datorită numeroaselor dovezi experimentale;

c) a treia teorie este derepresia unor antigene alogene de histo-compatibilitate, susținută în lucrările lui Parmiani și Invernizzi (1975) și Festenstein (1977), care au demonstrat că în carcinogeneza chimică sau virală pot uneori să apară unele antigene de histo-compatibilitate care aparțin altei linii pure, în afară de antigenele proprii ale individului. Conform acestei teorii, celulele normale posedă gene pentru toate antigenele de histo-compatibilitate ale tuturor indivizilor, dar aceste gene sînt în mod normal reprimare, rămînînd active numai cele care codifică constelația proprie. Derepresia altor gene de histo-compatibilitate în celulele maligne determină recunoașterea acestor celule ca străine și implicit distrugerea lor. Teoria este foarte seducătoare, deoarece dă o explicație plauzibilă pentru existența variației extraordinare a antigenelor MHC de la individ la individ și mai ales poate să explice de ce organismul a edificat și a păstrat mecanisme atît de perfecționate pentru distrugerea antigenelor de histo-compatibilitate străine, cu milioane de ani înainte de existența chirurgilor care să facă operații de transplantare. Originea acestor mecanisme în apărarea antitumorală rămîne o alternativă fascinantă, dar necesită încă studii care s-o confirme.

Reacția imună antitumorală

Supravegherea imunologică

Încă în 1909, Paul Ehrlich a lansat ideea că dacă organismul nu ar fi protejat de sistemul imun, cancerul ar apărea cu o frecvență covârșitoare. Mai târziu, în 1959, Thomas a enunțat teoria supravegherii imunologice, teorie stabilită și dezvoltată de Burnet în 1970—1971. În esență, această teorie susține că în celulele canceroase apar modificări care se traduc prin prezența neoantigenelor tumorale. Sistemele imune sensibilizate de aceste neoantigene vor pune în joc diverse mecanisme efectoare, capabile să distrugă celulele maligne înainte ca numărul lor să copleșească organismul. Apariția tumorilor manifeste s-ar datora conform acestei teorii, unei slăbiri a vigilenței sau a capacității de luptă a sistemului imun, ar fi provocată deci de o deficiență imunologică. Odată permisă, creșterea tumorală reușește să depășească capacitatea de apărare imunologică, ceea ce determină dezvoltarea locală a tumorii. Ulterior, o nouă imunodeficiență va crea condițiile favorabile creșterii focarelor metastatice. Teoria supravegherii imunologice se bazează deci pe două aserțiuni fundamentale: (a) existența neoantigenelor și (b) dependența dezvoltării cancerelor de deficiența imună.

Apariția acestei teorii a avut drept consecință o stimulare extraordinară a studiului imunologiei tumorilor, pe care l-a orientat în două direcții: prima a fost identificarea antigenelor tumorale (rezultatele căreia au fost expuse în subcapitolul anterior); a doua, studierea mecanismelor imune prin care este realizată distrugerea celulelor canceroase. Aceste mecanisme sînt extrem de complexe și încă incomplet clarificate. Elucidarea lor a fost consecința firească a progreselor realizate în înțelegerea fenomenelor imune în general, dar de fiecare dată relațiile tumoare-gazdă deveneau mai complicate. De fapt, este mult mai ușor de urmărit evenimentele care au loc într-un război în care armata imunologică este mobilizată de pătrunderea unui inamic extern și luptă cu toate mijloacele de apărare împotriva invaziei străine. Dezvoltarea tumorilor se aseamănă însă mai mult cu o revoluție, cu un război civil, în care inițial, chiar dacă armata este bine instruită și echipată, face față cu greu unui dușman intern, greu de recunoscut și care, în plus, folosește mijloace de luptă subtile și ascunse, inerente luptei revoluționare. În plus, trădarea are loc uneori chiar în sânul armatei, ca în cazul leucemiilor și limfoamelor maligne, și — cel puțin la început — este greu de recunoscut care sînt soldații loiali și care trădătorii.

Mecanismele reacțiilor imune

Pentru o înțelegere mai bună a fenomenelor, vor fi expuse succint mecanismele imunologice care participă la reacțiile imune în general (deci în război), insistînd asupra particularităților constatate în imunologia tumorală (în revoluție). Reacțiile imune sînt foarte complexe, implicînd factori celulari și umorali:

— factorii celulari sînt reprezentați de celulele antigen-specifice sau antigen-reactive, care au receptori pentru antigene și care conferă reacției caracterul

ei de specificitate — limfocitele T și B — precum și celulele antigen-nespecifice, monocitele, cu echivalentele lor fixate în țesuturi, macrofagele;

— factorii umorali cuprind compuși eliberați de celulele amintite: imunoglobulinele (adică anticorpii) și mediatorii celulari, alături de sistemul de proteine denumit complement, care realizează — în final — distrugerea celulelor.

Sistemul imun este un sistem de menținere a homeostaziei organismului, ca și celelalte sisteme mari: endocrin și nervos. Și aici se vorbește de un arc imunologic, în care deosebim o ramură aferentă — de recunoaștere, un centru imun și o ramură eferentă, efectoare, adică de distrugere a ceea ce este străin (fig. 22.12).

Ramura aferentă: recunoașterea antigenelor străine este realizată de celulele imuno-competente cu receptori pentru aceste antigene: limfocitele T și B, în prezența și cu ajutorul macrofagelor*. Cooperarea dintre limfocite și macrofage este un eveniment crucial în dezvoltarea unui răspuns imun, ca și cooperarea dintre limfocitele T și B.

Centrul imun este reprezentat de organele limfatice periferice: splină, ganglioni limfatici sau plăcile Peyer. Aici, limfocitele sensibilizate de antigen se transformă blastic și proliferază, dând naștere unei clone de limfocite activate. Acestea, prin eliberarea limfokinelor, pot să recruteze și alte celule și totodată să le înarmeze pentru ca să poată distruge ceea ce este străin. Tot aici se realizează cooperarea T—B (dintre limfocitele T și B), T—T și/sau macrofage-limfocite (T și B).

Ramura eferentă este reprezentată de celulele T efectoare, citotoxice (limfocitele T citotoxice), celulele K („killer”) sau ucigașe, NK („natural killer”) și celulele fagocitare — macrofagele — activate și înarmate. Produsele limfocitelor B, anticorpii sau imunoglobulinele au de asemenea capacitatea de a distruge celula țintă, respectiv canceroasă, în colaborare cu complementul.

Pe măsură ce răspunsul imun se dezvoltă, intervin interacțiuni reglatoare, care, pe de o parte îi asigură amploarea adecvată prin intensificarea răspunsului imun, iar pe de altă parte îl limitează în așa fel, încât să nu aibă loc o supra reacție. Reglarea se face prin foarte multe mecanisme, din care reamintim:

— *reglarea directă* efectuată de limfocitele T reglatoare: ajutătoare inductoare (sau T_H — de la „helper”) și supresoare (T_s), precum și de monocite;

— *reglatorii indirecti* sînt mediatori chimici denumiți în funcție de originea lor: *limfokine*, cînd sînt sintetizați de limfocite și *monokine*, dacă sînt sintetizați de monocite. Limfokinele au acțiuni multiple: atrag celulele fagocitare la tumoare (factorii chemotactici), le rețin, împiedicîndu-le să se risipească (factorul de inhibiție a migrării — MIF), le activează (MAF), le înarmează (SMAF), stimulează proliferarea celulelor efectoare (factori mitogeni), activează celulele NK prin interferon, transmit sensibilitatea la antigen (factor de transfer) etc.;

— în plus, reglarea răspunsului imun se face și prin anticorpii antiidiotip, anticorpi dirijați împotriva receptorilor pentru antigen.

Pentru ca întreaga aparatură complexă de apărare imună să funcționeze perfect, cu alte cuvinte pentru ca răspunsul să fie nu numai eficient, dar și nedăunător pentru organism, este absolut necesară o strînsă cooperare între toate

* Vom folosi termenul de monocite sau macrofage alternativ, pentru desemnarea celulelor fagocitante mononucleare.

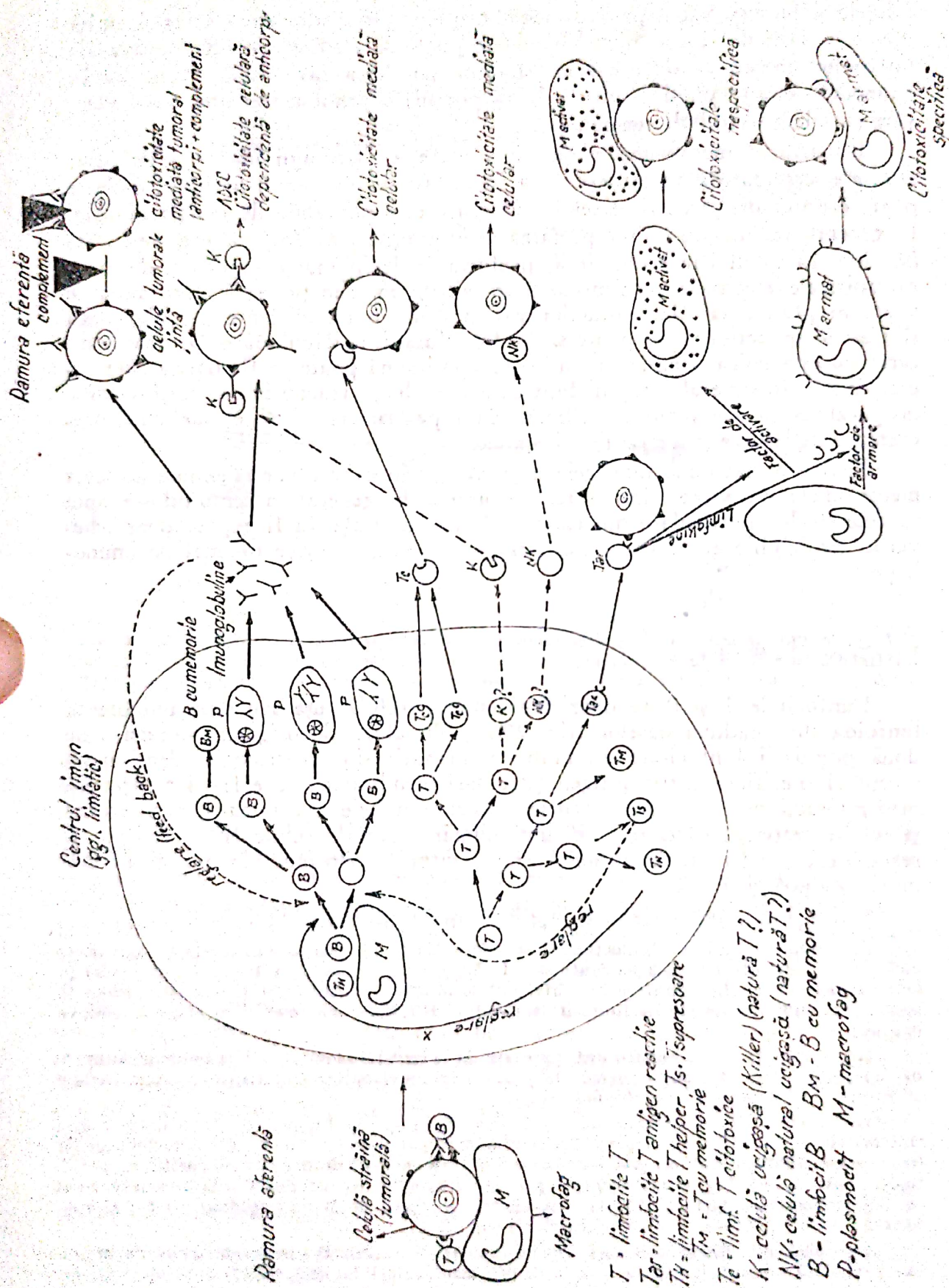


Fig. 22.12. — Reprezentarea schematică a arcului imun cu ramura aferentă (de recunoaștere), centrul imun (ganglion limfatic) și ramura eferentă (efectoare).

celulele și factorii participanți la acest răspuns. Orice alterare a oricărei verigi din acest lanț de reacții interdependente poate să ducă la dereglări grave ale întregului proces, ca de exemplu: slăbirea sau lipsa răspunsului imun (ca în imunodeficiențe) sau, din contra, la răspunsuri supradimensionate sau inadecvate (în alergii sau boli autoimune).

Descifrarea mecanismelor de funcționare a sistemului imun — de recunoaștere, efectoare și reglatoare — a fost obținută în special *in vitro*, unde se poate efectua disecarea diverselor componente responsabile de reacția globală. În general, rezultatele și interpretarea acestor testări au fost ulterior verificate *in vivo*. În cazul cancerului însă, problemele devin mai complicate, deoarece mecanismele efectoare, evidențiabile *in vitro*, nu funcționează totdeauna *in vivo*; în plus, chiar dacă funcționează pot să nu fie eficiente și, chiar dacă sînt eficiente, acțiunea lor poate să nu fie salutară, ci dăunătoare. De fapt, cancerul nu este unica situație în care o reacție imună poate să fie dăunătoare organismului. În general, simplul fapt că a avut loc o reacție imună nu înseamnă neapărat că ea are și un efect binefăcător pentru organism: există numeroase exemple de boli generate de reacții imune.

Pentru o mai bună înțelegere a imunității în cancer vor fi expuse pe scurt mecanismele efectoare dintr-o reacție imună în general, accentuîndu-se apoi caracterele lor particulare din cancer. Partea generală va fi expusă doar schematic, principiile ei detaliate fiind expuse pe larg în orice manual de imunologie.

22.2.2.1.

Limfocitele T și B

Limfocitele T și B au o origine comună: celula sușă sau stem unipotentă limfoidă din măduva oaselor (fig. 22.13). În afară de originea comună, cele două populații limfocitare au multe asemănări: sînt morfologic identice, au receptori specifici pentru antigen (structuri membranale care leagă antigenul), prin interacțiune cu antigenul sau sensibilizare ambele se activează, proliferază și se diferențiază, dînd naștere unui număr mare de celule fiice capabile să reacționeze specific cu antigenul corespunzător (expansiune clonală) și au memorie imunologică.

Există însă numeroase diferențe între populațiile B și T:

(a) *Maturarea diferită*: limfocitele T se diferențiază și se maturează în timus; din acest motiv sînt denumite timus-dependente sau T. Maturarea limfocitelor B are loc la păsări în bursa Fabricius, iar la mamifere în echivalentele bursale (ficatul fetal și măduva oaselor la adulți), de unde denumirea de limfocite sau celule B („Bone marrow” — în engleză măduva oaselor).

(b) *Receptorii pentru antigen sînt reprezentați în cazul limfocitelor B de imunoglobulinele de suprafață, prescurtat SIg („surface Ig”), adică imunoglobuline sintetizate de aceste celule și dispuse pe suprafața membranei celulei.*

Nu se cunoaște cu precizie natura acestor receptori la limfocitele T; în unele cazuri (limfocitele T supresoare și helper) ei posedă o mică porțiune din molecula imunoglobulinelor (regiunea variabilă a lanțului greu). Acești receptori reacționează mai ales cu porțiunea purtătoare a antigenului. În general receptorii pentru antigen ai limfocitelor T și B interacționează cu determinanți antigenici diferiți — receptorii limfocitelor B cu haptena, iar cei ai limfocitelor T cu purtătorul haptenei („carrier”) (fig. 22.14).

(c) *Funcțional*, diferențele sînt cele mai mari: limfocitele B sînt responsabile de imunitatea mediată umoral, iar limfocitele T de cea mediată celular (fig. 22.13).

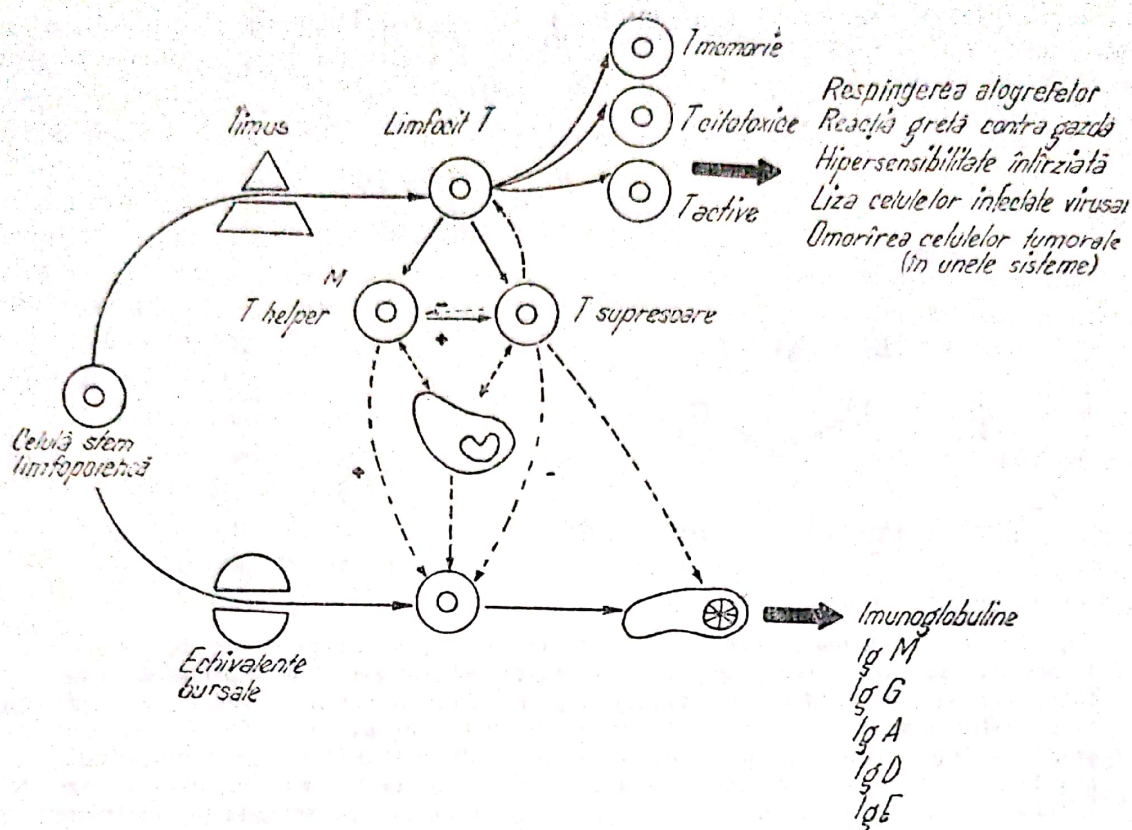


Fig. 22.13. — Schema originii și maturării limfocitelor B și T și a interacțiunilor reglatoare. Săgețile indică direcția maturării și controlului reglator: săgețile pline — controlul stimulator (pozitiv); cele punctate — controlul inhibitor sau supresor (negativ) (Broder și colab., 1979, modificat).

22.2.2.1.1.

Limfocitele B

Limfocitele B prin interacțiune cu antigenele, în prezența și cu ajutorul macrofagelor și a limfocitelor T ajutătoare, T_H, proliferază și se diferențiază în plasmocite, celule care sintetizează și secretă anticorpii sau imunoglobuline*. Se știe că există 5 clase de imunoglobuline (prescurtat Ig): IgM, IgG, IgA, IgE și IgD. Un singur plasmocit este capabil să secrete 2 000 de molecule de Ig pe secundă. Pentru a se diferenția în plasmocite, limfocitele B au nevoie de 2 semnale: unul furnizat de legarea antigenului cu SIg, iar al doilea dat de limfocitul T^H, sensibilizat cu același antigen (fig. 22,14). Cele două semnale pot fi comparate cu aprinderea unui bec: în primul rând trebuie pusă lampa în priză, iar al doilea gest trebuie să fie apăsarea butonului de aprindere a lămpii. Lampa nu funcționează dacă nu există ambele semnale, indiferent dacă am uitat să o punem în priză, sau să apăsăm pe buton. În cazul în care semnalul este dat numai de antigen, limfocitele B proliferază, dar nu se diferențiază în plasmocite. Un exemplu sugestiv este dat de unele leucemii limfatice cronice, în care există o proliferare masivă de limfocite B, dar o cantitate foarte mică de imunoglobuline serice, datorită lipsei de diferențiere a acestor

* Termenii de imunoglobuline și anticorpi sînt sinonime; este de preferat primul, deoarece specifică natura lor.

celule în plasmocite. Dacă limfocitele B ale acestor leucemii sînt incubate cu limfocitele T_H de la persoane sănătoase, se transformă în plasmocite și sînt capabile să secrete imunoglobuline. Deci, defectul este în limfocitele T_H ale acestor bolnavi, limfocite care nu sînt capabile să dea semnalul de „aprindere”.

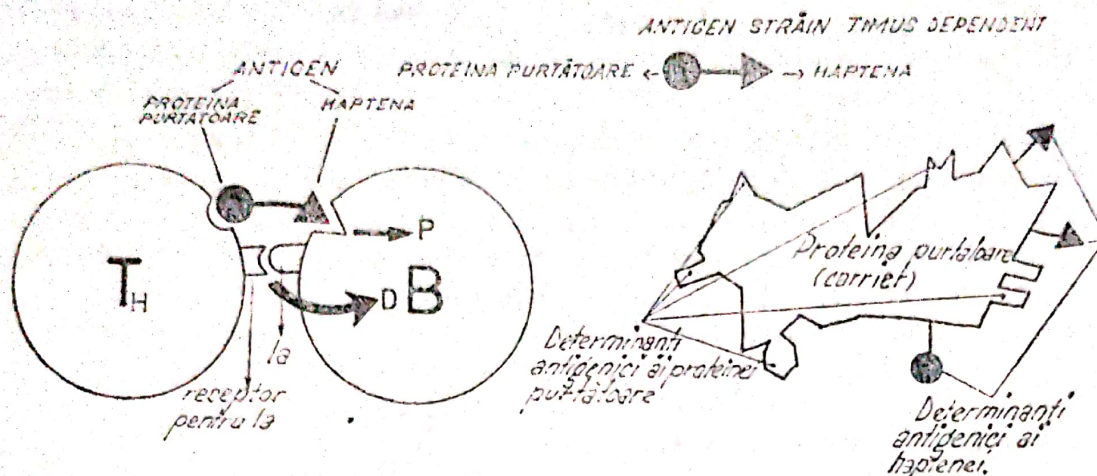


Fig. 22.14. — Schema cooperării dintre limfocitele T_H și B dependentă de antigen. Limfocitul T_H posedă receptor pentru determinanții antigenici de pe proteina purtătoare (carrier), iar limfocitul B pentru haptena. Ambele celule posedă structuri de recunoaștere a selfului: pe limfocitul B antigenul Ia, iar pe limfocitul T receptorul pentru autolog. Interacțiunea dintre antigen—limfocit B declanșează primul semnal (P) de proliferare, iar interacțiunea dintre structurile de recunoaștere B-T declanșează al doilea semnal (D) de diferențiere a limfocitelor B în plasmocite producătoare de anticorpi. În dreapta, este reprezentată schematic structura antigenelor timo-dependente, formate din proteina purtătoare (carrier) și haptene. Determinanții antigenici (epitopi) ai carrier-ului și haptenei sînt diferiți.

„Stingerea” secreției de imunoglobuline este realizată de un alt tip de limfocite T și anume de cele supresoare T_s . Funcționarea defectuoasă a acestora va avea ca rezultat producerea continuă de imunoglobuline, chiar în absența stimulării antigenice, ca în bolile autoimune. Invers, existența unei proliferări de limfocite T_s poate să ducă la absența producerii de imunoglobuline, la „stingerea” ei, în pofida stimulării antigenice și a „aprinderii” realizată de T_H . Deși aceste mecanisme par suficiente pentru reglarea fină a răspunsului imun, organismul a creat și altele ca: mecanisme de feedback negativ, inhibiția sintezei prin produsul final, adică prin imunoglobuline, precum și reglarea prin anticorpii antiidiotip (adică prin anticorpi anti-anticorpi) sau chiar prin anticorpi anti-antiidiotip (sau anticorpi anti-anticorpi). Aceștia pot să stimuleze sinteza imunoglobulinelor (dacă sînt în cantități mici) sau să o suprimă (dacă sînt în cantități mari).

22.2.2.1.2.

Limfocitele T

Limfocitele T recunosc antigenele străine numai dacă sînt legate de membrana celulelor, spre deosebire de limfocitele B, care recunosc și antigenele libere (solubile).

Pentru inducerea răspunsului imun, respectiv pentru ca limfocitul T să fie stimulat, este necesară prezența macrofagelor care preiau și prelucrează antigenul și-l prezintă limfocitelor T. Ca urmare a acestei stimulări antigenice,

are loc proliferarea clonală a limfocitelor T și diferențierea lor în celule efectoare. În ultimii ani, Lefferty (1980) și Bach și colab. (1976) au adus dovezi experimentale care sugerează că și în cazul limfocitelor T sînt necesare 2 semnale: unul furnizat de legarea antigenului, iar al doilea de o celulă stimulatorie. Natura acestei celule stimulatorie încă nu este precizată. În urma expansiunii clonale a limfocitelor T apar celulele efectoare care acționează direct asupra celulelor străine, nu prin intermediul anticorpilor. Deci, limfocitele T sînt substratul imunității mediate celular, responsabilă de: respingerea alogrefelor, hipersensibilitatea de tip întârziat, reacție grefă contra gazdei și liza celulelor infectate viral sau a celor tumorale (în unele sisteme). La aceste reacții participă (fig. 22.12):

— limfocitele T citotoxice (T_C), denumite de unii autori și T_K („T killer”), care distrug celulele purtătoare de antigene străine alogene sau proprii (dacă sînt modificate antigenic);

— limfocitele T helper (T_H), amplificatoare, inductoare sau ajutătoare, care mărește reacția imună prin acțiunea lor directă atît asupra limfocitelor B, cît și asupra celor T și chiar a macrofagelor — datorită eliberării de limfokine;

— limfocitele T supresoare (T_S), care limitează sau suprimă reacția imună;

— tot în rîndul limfocitelor T au fost incluse cel puțin o parte din celulele ucigașe, celulele K („killer”) și NK („natural killer”), care vor fi discutate în detaliu mai tîrziu (vezi mecanismele citotoxicității în cancer).

Reglarea reacțiilor imune se face nu numai prin cele două tipuri de limfocite reglatoare, T_H și T_S , ci și prin producerea de către limfocitele T reactive la antigen a unor mediatori chimici denumiți limfokine (tabelul 22.VI). Se pare că sursa principală a limfokinelor stimulatorie este T_H iar a celor inhibitorii T_S .

TABELUL 22.VI

CLASIFICAREA PRINCIPALELOR LIMFOKINE ÎN FUNCȚIE DE NATURA CELULELOR ASUPRA CĂRORA ÎȘI EXERCITĂ EFECTUL STUDIAT
(J. F. BACH, 1976; BENDTZEN, 1978; HOBART ȘI MCCONNELL, 1976; WAKSMAN, 1978)

Simbol	Factor	Efectul observat
(1) Factori care acționează asupra macrofagelor (*)		
MIF	(„Migration Inhibitory Factor”) Factor de inhibiție a migrării	Inhibă migrarea macrofagelor <i>in vitro</i> . Antigen independent
SMIF	(„Specific macrophage Migration Inhibitory Factor”) MIF specific	Inhibă migrarea macrofagelor dependent de antigen
MSF	(„Macrophage Spreading Inhibitory Factor”) Factor de inhibiție a răspîndirii	Inhibă etalarea macrofagelor pe o suprafață <i>in vitro</i>
MAF	(„Macrophage Activating Factor”) Factor de activare a macrofagelor	Stimulează liza bacteriilor și a celulelor alogene
SMAF	(„Specific Macrophage Arming Factor”) Factor de armare specifică a macrofagelor	Induce și amplifică efectul citotoxic față de celulele tumorale
CF	(„Chemotactic factor”) — Factor chemotactic	Provoacă atragerea macrofagelor
(2) Factori care acționează asupra limfocitelor		
MF sau	(„Mitogenic/Blastogenic Factor”)	Provoacă transformarea blastică

Simbol	Factor	Efectul observat
BF sau IL-2	Factor mitogen sau blastogen	și mitoza limfocitelor independent de antigen
LTF	(„Lymphocyte Transforming Factor“)	Provoacă transformarea limfocitelor dependent de antigen
TF	Factor de transformare a limfocitelor („Transfer factor“) — Factor de transfer	Transferă limfocitelor de la persoanele neimune capacitatea de a reacționa specific la contactul cu antigenul
TRF sau BCDF	(„T-cell Replacing Factor“)	Permite diferențierea limfocitelor B în plasmocite producătoare de anticorpi
	Factor de înlocuire a limfocitelor T	
HF	(„Helper factors“) — Factori de ajutorare	Înlocuiește celulele T având efect alogen
AET	(„Allogenic Effect Factor“)	
	Factor cu efect alogen	Suprimă activitatea limfocitelor B (și/sau T) și producerea de anticorpi (poate fi și solubil SIRS)
SF	(„Suppressor Factors“) — Factori supresori	
	(3) Factori care acționează asupra polimorfonuclearelor	
LIF sau LMIF	(„Leucocyte Migration Inhibitory Factor“)	Inhibă migrarea leucocitelor
CF	Factor de inhibiție a migrării leucocitelor („Chemotactic factor“) — Factor chemotactic	Accelerează traversarea membranelor de către polimorfonucleare
EPF	(„Eosinophil Promoting Factor“)	Crește migrarea eozinofilelor în gel de agaroză
LMEF	Factor de stimulare a eozinofilelor („Leucocyte Migration Enhancement Factor“) — Factor de stimulare a migrării leucocitelor	Stimulează migrarea leucocitelor
GPEF	(„Granulocyte Phagocytosis Enhancement Factor“)	Stimulează capacitatea fagocitantă a granulocitelor
PAF	Factor de stimulare a fagotozei („Pinocytosis Activating Factor“)	Acționează asupra granulocitelor și macrofagelor
	Factor de activare a pinocitozei	
	(4) Factori care acționează asupra liniilor celulare	
LT	(„Lymphotoxine“)	Au efect citotoxic asupra anumitor linii celulare (mai ales L.)
	Linfotoxine alfa-1 și beta	
PIF	(„Proliferation Inhibitory Factor“)	Inhibă proliferarea celulelor și formarea clonelor de celule
	Factor de inhibiție a proliferării	
CPIF	(„Clonal Proliferation Inhibitory Factor“)	Stimulează diferențierea celulelor medulare sușe în celule hematoformatoare
	Factor de inhibiție a proliferării clonale	
CSF	(„Colony Stimulating Factor“)	
	Factor de stimulare a coloniilor	
	(5) Factori cu efecte speciale**	
IF	(„Interferon“) tip II — Interferon γ	Diminuă efectul citopatogenic al virusurilor, stimulează celulele NK și macrofagele în activitatea tumoricidă
SRF	(„Skin Reactive Factor“)	Crește permeabilitatea vasculară capilară și favorizează reacția inflamatorie a pielii
LNAF	(„Lymph Node Activating Factor“)	Mărește ganglionii, crește numărul de celule în zonele timodependente
	Factor de activare a ganglionilor limfatici	

LNPF	(„Lymph Node Permeability Factor“) Factor de permeabilizare a ganglionilor limfatici	Crește permeabilitatea ganglionilor limfatici
OAF	(„Osteoclast Activating Factor“) Factorul de activare a osteoclastelor	Mărește activitatea osteoclastelor din oase
PAP	(„Platelet Aggregation Promotor“) Factor de agregare a trombocitelor	Determină agregarea trombocitelor — microtrombi.
LAF	(„Lymphocyte-induced Angiogenesis Factor“) Factor de angiogeneză locală limfocitar	Stimulează formarea de capilare și vase noi

* Unii factori pot fi identici: de exemplu, MIF nu a fost separat de MAF, SMIF este probabil identic cu SMAF și PAF. MF este posibil identic cu LTP, CIF este probabil un polimer al PIF. Caracterizarea lor a fost făcută pe baza funcției și nu s-a realizat încă o identificare biochimică.

** Factorul mitogen pentru timocite (TMF) este în prezent denumit Interleukina-2 (IL-2). Sub această nouă denumire sînt cuprinși următorii factori care mai apar în literatură sub diverse denumiri: TGGF („T-cell growth factor“), Co-stimulator, KHF („killer cell helper factor“), SCIF („Secondary cytotoxic T-cell inducing factor“).

Eliberarea limfokinelor este un fenomen imun specific, deoarece are loc prin interacțiunea antigenului cu limfocitele reactive numai la acest antigen. Ulterior însă, limfokinele pot să acționeze asupra celulelor țintă în absența antigenului sau chiar asupra celulelor provenite de la alte animale din aceeași specie, motiv pentru care sînt folosite uneori în imunoterapia nespecifică (de exemplu factorul de transfer sau interferonul). Eliberarea diverselor limfokine stimulatorie determină mobilizarea și recrutarea limfocitelor nesensibilizate în răspunsul imun, precum și înrolarea și armarea (sau înarmarea) celulelor fagocitante, pentru ca acestea să poată distruge celule străine. Limfokinele eliberate de 1—2 limfocite T sînt capabile să activeze 100 de macrofage. Deoarece activarea și armarea acestor celule nu este un proces imun specific, celulele fagocitante astfel înarmate vor acționa în toate direcțiile, nu numai strict împotriva antigenului sensibilizator. Acest răspuns „tout azymut“ stă la baza imunoterapiei nespecifice.

Alte diferențe între limfocitele T și B sînt anumiți markeri caracteristici prezenți pe membrana acestor celule, care permit diferențierea lor *in vitro*. Ei sînt fie receptori pentru anumite celule, sau molecule (complement, imunoglobuline), fie antigene specifice pentru limfocitele T (HTLA) sau B (HBLA). Limfocitele care nu au markerii caracteristici nici pentru T și nici pentru B, au fost denumite limfocite non-B — non-T, „nule“ sau neclasificate (UGLC) și constituie a treia populație limfocitară (tabelul 22.VII).

22.2.3.

Rolul complexului major de histo-compatibilitate (MHC) în răspunsul imun

În ultimii ani s-a demonstrat că în reglarea răspunsului imun joacă un rol esențial complexul major de histo-compatibilitate (prescurtat MHC). Pentru o mai bună înțelegere, vor fi expuse succint cîteva date privind structura acestuia. Antigenele codificate de MHC, adică antigenele de histo-compatibilitate sau de transplantare au fost identificate inițial pe leucocitele din sângele uman și din acest motiv au fost denumite antigene leucocitare umane (prescurtat

**MARKERII LIMFOCITELOR T, B ȘI NON-B-NON-T,
COMPARATIV CU CEI AI MONOCITELOR LA OM
ȘI PROPORȚIA ACESTORA ÎN SÎNGELE PERIFERIC**

Markerul	Limfocite T 75 %	Limfocite B 14 %	non-B-non-T 4-6 %	Monocite
* SIg* de origine endogenă	—	+	—	—
* Rozetare spontană cu eritrocite de oaie	+	—	—(?)	—
Receptori Fc (pentru IgG)	—	—	+	+
— afinitate mare	(+)	+	—	—
— afinitate mică	—(?)	(+)	(+)	(+)
Receptori pentru C3 al complementului	—	—	—	+
Fagocitoză	+	—	±	—
Antigenul limfocitelor T (HTLA)	—	+	±	—
Antigenul limfocitelor B (HBLA)	—	+	—	—
Rozetare cu eritrocite de soarece	(—)	(+)	±	(+)
Antigen Ia-like (HLA-DR)	—	+	—	—
Receptori pentru virusul Epstein-Barr	—	+	—	—

În plus există diferențe în răspunsurile proliferative la o serie de mitogeni (phytohaemagglutinină, concavalina A, pokeweed, lipopolizaharid etc.), sensibilitatea la iradiere și citostatice etc.

* Markerii cei mai utilizați în evidențierea naturii B sau T a limfocitelor.

() Parantezele indică faptul că acest caracter nu este prezent sau absent totdeauna sau pe absolut toate celulele.

(?) Unii autori consideră că unele limfocite non-B-non-T rozetează cu eritrocitele de oaie, dar rozetele sînt de mică afinitate.

HLA — „Human Leucocyte Antigens“). Ulterior s-a văzut că ele există pe toate celulele nucleate din organism, precum și pe trombocite, dar denumirea inițială — HLA — a fost păstrată. Genele care codifică aceste antigene, adică genele MHC, sînt situate pe o porțiune mică din cromozomul 6, în care se găsesc și genele pentru componentele C₂ și C₄ ale complementului și ale factorului B sau properdinei (fig. 22.15).

Marea eterogenitate a antigenelor HLA este determinată de polimorfismul lor genetic. Sistemul cuprinde 4 loci HLA: A, B, C și D și fiecare locus comportă mai multe alele sau variante — minimum 20 pentru HLA-A (A1, A2, A2, A2, ... A16 etc.), peste 30 pentru B, 8 pentru C și 12 pentru D (I. H. Workshop, 1980). Deoarece majoritatea oamenilor sînt heterozigoți, fiecare om va avea o alelă moștenită de la tată — de exemplu A2 — și una de la mamă — să spunem A18. Dacă ținem seama de faptul că există zeci de alele pentru fiecare locus, 4 loci și 2 cromozomi, ne putem da seama că numărul tuturor combinațiilor posibile este foarte mare, peste un milion numai pentru MHC, dar în plus mai există și sisteme minore de histo-compatibilitate.

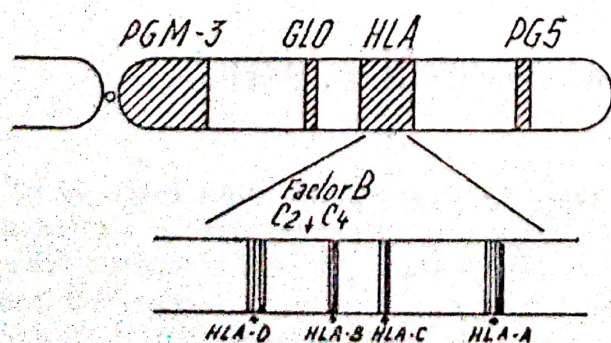
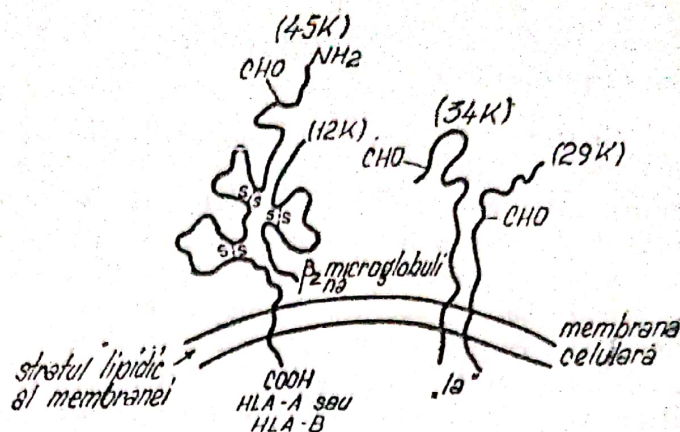


Fig. 22.15. — Schema regiunii HLA de pe brațul scurt al cromozomului 6 uman. În stînga centromerul. Genele codificate: PGM-3 (fosfo-glucomutaza 3), GLO (glioxidaza), HLA (complexul major de histo-compatibilitate), PG-5 (pepsinogenul urinar 5). Jos: regiunea HLA mărită, se remarcă locii: HLA-A, HLA-B, HLA-C (clasa I) și HLA-D (alături HLA-DR) (clasa II), precum și regiunea care cuprinde genele structurale pentru componentele C₂ și C₄ ale complementului și factorului B al properdinei (clasa III) (McDavitt, 1980, modificat).

Fig. 22.16. — Structura antigenelor de histo-compatibilitate din clasa I (stinga) și antigenul Ia (dreapta). Primele sînt formate din 2 lanțuri: unul glicoproteic, cu greutate moleculară de 45 kilodaltoni, traversează membrana celulară (glicoproteină integrală) și este codificat de genele HLA; al doilea lanț este format din β_2 — microglobulină cu greutatea moleculară 12 kilodaltoni, codificată de genele altui cromozom (cromozom 15). Molecula de Ia este formată tot din 2 lanțuri: α (34 kilodaltoni) și β (29 kilodaltoni), care traversează membrana celulară (glicoproteina integrală). S-S reprezintă legăturile disulfidice din lanțul proteic, CHO = porțiunea glucidică (Benacerraf, 1981).



Antigenele codificate de alelele din primii 3 loci (clasa I): A, B și C, pot fi decelate serologic, deoarece pot să inducă formarea de anticorpi. Din acest motiv, au fost denumiți loci SD, adică definiți serologic („serologically defined“). Produsele alelelor locusului D (clasa II) nu pot fi decelate serologic, ci numai de limfocite; ele sînt numite antigene LD („lymphocyte defined“). Toate antigenele HLA sînt glicoproteine formate din 2 lanțuri, inserate în membrana celulelor (fig. 22.16).

Antigenele HLA-A, B și probabil C sînt formate dintr-un lanț greu de 45 000 de daltoni (45 K)* care prezintă polimorfismul remarcabil determinat de alela care-l codifică și un lanț ușor de 12 000 de daltoni (12 K), identic la toate aceste antigene, reprezentat de beta-2-microglobulină (fig. 22.16). Faptul că anumite zone din aceste antigene sînt similare cu porțiunile constante ale imunoglobulinelor G sugerează originea lor comună. Probabil antigenele HLA sînt molecule de recunoaștere primitive, din care au evoluat apoi imunoglobulinele.

Antigenele codificate de HLA-D (antigenele HLA-DR**) similare celor Ia ale soarecilor, sînt formate tot din 2 lanțuri: alfa de 33 000 de daltoni (33 K) și beta, de 29 000 de daltoni (29 K).

Complexul major de histo-compatibilitate HLA intervine în răspunsul imun în respingerea alogrefelor, în cooperarea dintre celule și în activitatea citotoxică realizată de limfocitele T.

22.2.3.1.

Rolul MHC în respingerea alogrefelor

Antigenele codificate de locii HLA-A, B și C sînt antigene puternice de histo-compatibilitate, care determină apariția unui număr mare de limfocite T aloreactive. Tot ele sînt ținta celulelor T ucigașe (T_K) sau citotoxice (T_C), care determină respingerea grefelor străine (alogrefelor). Cu alte cuvinte, aceste antigene dețin rolul principal imunoreglator în transplantare, prin determinarea numărului și specificității celulelor T_C . În cazul în care celulele exprimă, prin malignizarea lor, antigene de histo-compatibilitate străine similare aloantigenelor, vor putea deveni ținta acestor celule citotoxice.

* K — de la kilo-daltoni.

** HLA-DR (probabil al 5-lea locus HLA apropiat de HLA-D, de unde denumirea de HLA-DR (HLA-D Related) (International Histocompatibility, Workshops, 1980). Recent s-a considerat mai corectă împărțirea HLA-D în 2 sublocusuri: HLA-DQ și HLA-DR.

22.2.3.2.

Rolul MHC în cooperarea celulelor
din răspunsul imun

Se știe de mult timp că unii indivizi răspund puternic la anumite antigene, în timp ce alții răspund slab sau deloc. Capacitatea de a răspunde depinde de configurația genetică a individului, de prezența sau absența unor gene, denumite de Levine și Benacerraf gene ale răspunsului imun sau prescurtat gene Ir („immune response“). Deci, ne naștem cu proprietatea de a răspunde sau nu la oricare din antigenele cu care vom veni în contact în timpul vieții. Unele din genele Ir par să aibă un efect absolut, „totul-sau-nimic“, iar altele influențează amploarea și durata răspunsului imun. Până în prezent nu a fost identificat decât un număr mic de gene Ir, dar numărul lor total se pare că este mult mai mare. În mod surprinzător s-a constatat că există un complex de gene Ir, strâns legate de MHC, situate la șoareci în regiunea I din complexul H-2, regiune analoagă locusului HLA-DR (fig. 22.17) (tabelul 22.VIII). Și răspunsul imun față de antigenele tumorale este sub controlul genelor Ir. Deși

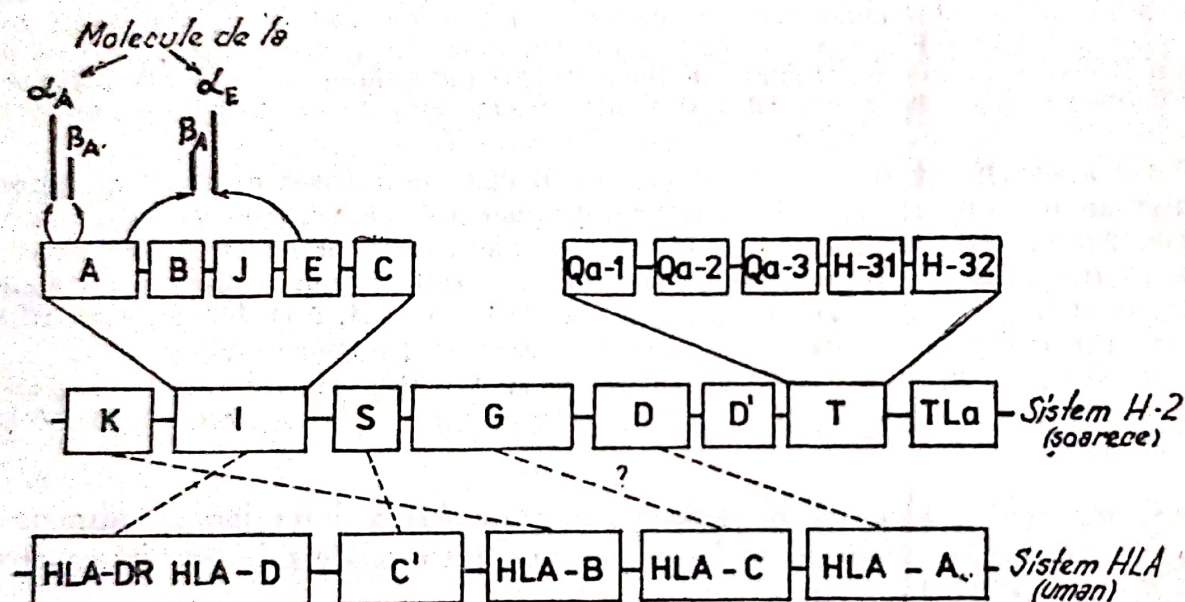


Fig. 22.17. — Corespondențele dintre sistemul HLA și sistemul major de histo-compatibilitate H-2 al șoarecelui. Locusul I (echivalentul HLA-DR) cuprinde genele răspunsului imun (Ir) și prezintă 5 sublocusuri A, B, J, E, C. Moleculele de Ia sint codificate în general de genele cuprinse în sublocusul 1-A (lanțul α și β) și uneori de cele din 1-E (lanțul β). Regiunea T cuprinde sublocusurile Qa1, Qa2, care codifică aloantigenele limfocitare murine, iar complexul TLa antigenele de diferențiere timocitare (Gergely 1979 și Benacerraf, 1981, modificat).

analiza genetică în cancer este abia la început, s-a constatat că probabilitatea de a face leucemie la șoareci depinde de gena Ir-1 și de o altă genă Rgv-1 situată în regiunea I a complexului H-2*. O altă genă legată de H-2 controlează apariția adenocarcinomului mamar la șoarecii infectați cu virusul tumorii mamare.

În cazul speciilor animale la care există linii pure, s-a putut face analiza genetică și localizarea genelor Ir. Până în prezent la om sînt mai puține date, dar cele existente confirmă datele obținute la animale.

* Rg v-1 și 2 controlează rezistența la v. Gross („Resistance to Gross Virus“) Similar Rfv-1 și Rfv-2 sau Rmv-1 și 2 controlează rezistența la virusul Friend, respectiv Moloney.

La șoareci, la care au fost cel mai bine studiate genele Ir, s-a constatat că cele situate în regiunea I sînt cuprinse în 5 subregiuni separate: I-A, I-B, I-J, I-E și I-C (fig. 22.17). Majoritatea genelor Ir se află în subregiunea I-A și I-B. Unele gene participă la fenomenele de ajutorare (I-A și I-C) iar altele la cele de supresie, genele I_s („immune suppression”) (I-J). Aceste gene reglează atât răspunsurile imune prin anticorpi, cât și pe cele de hipersensibilitate întârziată. Fiecare subregiune este suficient de mare pentru a putea conține aproximativ 500 de gene.

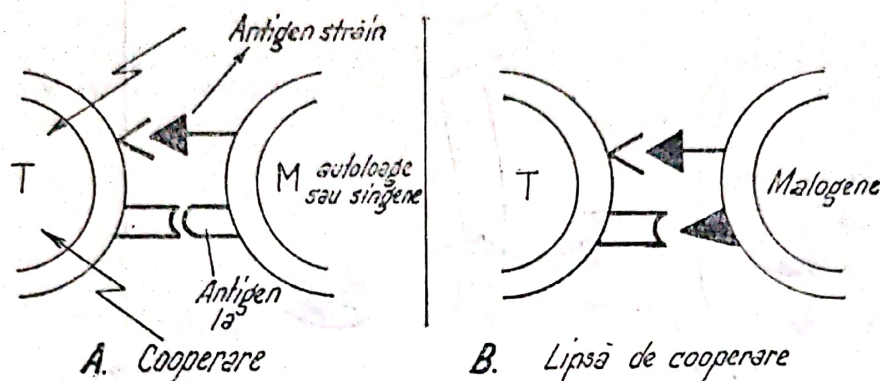


Fig. 22.18. — Cooperarea dintre macrofage (M) și limfocitele T necesară pentru stimularea limfocitelor. Modelul cu 2 receptori pe limfocitul T: unul pentru antigenul străin (prelucrat și prezentat de macrofag), al doilea pentru molecula de Ia autoloagă (recunoașterea selfului). A. Cooperarea determină activarea limfocitului T; B. Lipsa de cooperare, prin absența celui de al II-lea semnal, datorită nerecunoașterii moleculei de Ia (Ia alogen).

Care este produsul codificat de aceste gene? S-a constatat că genele din subregiunea I-A (uneori în colaborare cu cele din I-E) codifică informația necesară pentru sinteza unei glicoproteine, formată din 2 lanțuri — alfa și beta — denumită Ia („immune response associated”). Această glicoproteină are un rol esențial în cooperarea dintre celulele T, B și macrofage, colaborare absolut necesară în răspunsul imun (fig. 22.16). Moleculele de Ia sau antigenele Ia sînt prezente pe membrana macrofagelor și a limfocitelor B. Limfocitele T pot să deceleze antigenele străine care le sînt prezentate de macrofage, numai în prezența acestor molecule Ia. Deci, recunosc ceea ce este străin numai dacă, concomitent, recunosc și ceea ce este propriu — moleculele de Ia proprii organismului. Macrofagele care prezintă limfocitelor T antigenele străine, dar nu posedă Ia, nu le pot stimula, la fel ca și macrofagele străine care posedă Ia diferite (alogene). Cooperarea dintre macrofage și limfocitele T se face printr-un contact dublu: prin antigenul străin și Ia propriu. Această interacțiune dublă determină proliferarea și diferențierea limfocitelor T în celule efectoare (fig. 22.18; 22.19).

Cooperarea T-macrofage a fost explicată prin 2 modele ipotetice: a) moleculele de Ia servesc drept punte de contact între celule. În acest caz, limfocitul T trebuie să posede 2 tipuri de receptori: unul pentru Ia și al doilea pentru antigenul străin (modelul recunoașterii duble) (fig. 22.18); b) moleculele de Ia sînt substratul care leagă antigenul (fig. 22.19). Limfocitul T poate deci să aibă numai un singur receptor care recunoaște la modificat — la plus antigenul străin (modelul recunoașterii selfului alterat).

Prin stimularea lor, limfocitele T sînt capabile să activeze limfocitele B pentru ca acestea să-și exercite rolul lor major — producerea de anticorpi. Interacțiunea T—B, necesară pentru producerea celui de al doilea semnal,

are loc tot prin moleculele de Ia, prezente pe limfocitele B (fig. 22.14). Puntea realizată între Ia și receptorii pentru Ia creează legătura (dintre limfocitele T și B) prin care este transmis semnalul de diferențiere plasmocitară a limfocitelor B. Se pare că și în activarea limfocitelor T efectoare, citotoxice,

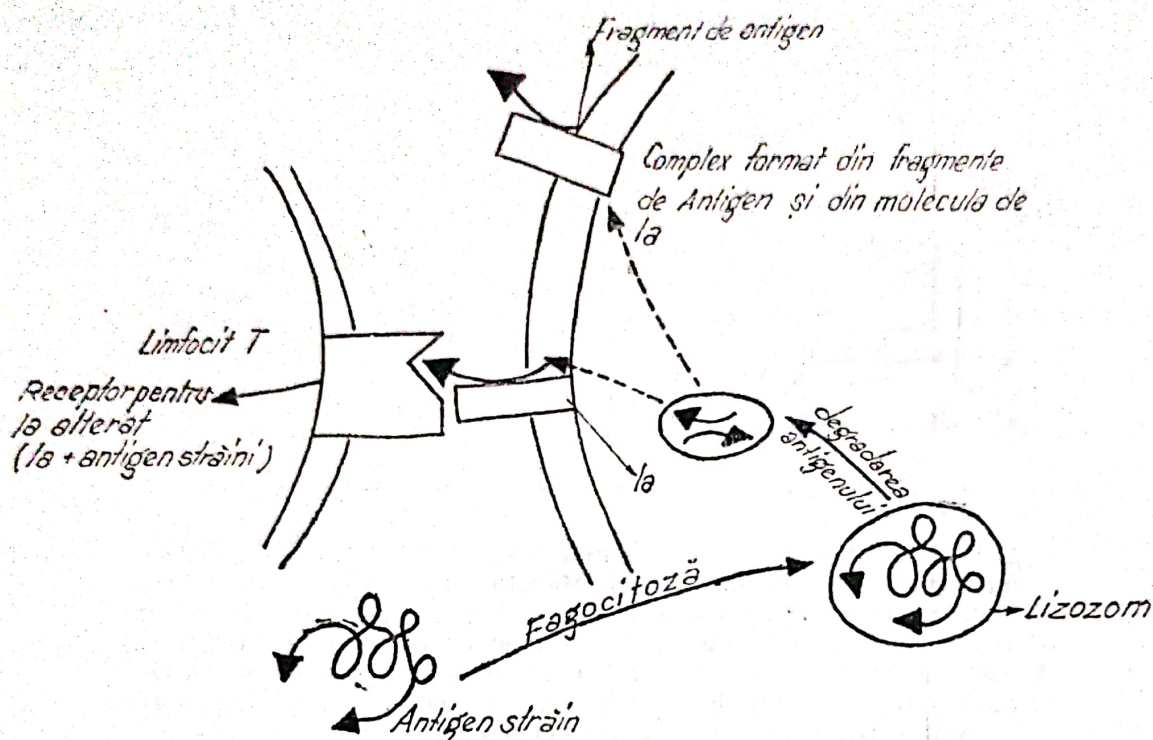


Fig. 22.19. — Modelul cu un singur receptor necesar pentru cooperarea macrofag — limfocit T. În urma interacțiunii specifice dintre moleculele de Ia și fragmentele de antigen (determinanți antigenici) prelucrate de macrofag rezultă un complex antigen-Ia (Ag+ Ia). Complexul reacționează cu un receptor specific pentru Ia modificat, de pe limfocitul T (Benacerraf, 1981, modificat).

sînt necesare 2 semnale: unul furnizat de legarea de antigenele străine de pe membrana celulelor alogene, iar al doilea, inductor, eliberat de o celulă stimulatorie, probabil tot limfocitul T_H .

Reglarea răspunsului imun nu este realizată numai prin limfocitele T_H ci și prin cele supresoare. Suprimarea este realizată prin 2 modalități:

— direct, printr-un fenomen complex, încă incomplet elucidat. Unele antigene stimulează preferențial producerea de limfocite T supresoare la unele animale. Aceleași antigene, la alte animale, stimulează producerea de limfocite T_H . Controlul apariției limfocitelor T_H sau T_S este realizat de genele din regiunea I. Stimularea preferențială a celulelor T_S a fost observată în multe tipuri de cancer, ceea ce explică lipsa reacției imune antitumorale;

— în plus, s-a constatat că subregiunea I—J codifică unele molecule proteice (sau glicoproteice) prezente pe membrana limfocitelor T_S , molecule care se leagă de receptorul pentru antigen și formează un complex. Complexul se poate desprinde de pe membrana celulelor — constituind factorul supresor antigen-specific — și poate să stimuleze generarea de noi limfocite T supresoare, concomitent cu efectul lui supresor asupra limfocitelor B și T.

În concluzie, structura genetică a regiunii I determină modalitatea răspunsului imun: dacă vor fi generate limfocite T ajutătoare și, consecutiv,

se vor produce anticorpi și reacții de citotoxicitate mediate celular; dacă se vor produce limfocite T supresoare, nu vor apărea reacții citotoxice și anticorpi, sau, în sfârșit, nu vor fi generate nici limfocite T_H și nici T_S , deci nu va exista un răspuns imun (tabelul 22.VIII).

TABELUL 22.VIII

**IMPORTANȚA GENELOR ȘI MOLECULELOR CODIFICATE
DE COMPLEXUL DE HISTO-COMPATIBILITATE ÎN RĂSPUNSUL IMUN**
(KATZ, 1980 – MODIFICAT)

(A) Regiunea I (la om HLA-D)

1. Gene de interacțiune celulară (CI) și molecule care controlează interacțiunile dintre limfocitele T, B și macrofage (cuprind una sau mai multe gene din regiunea I)
 - a) controlează cel mai eficient interacțiunile macrofage-limfocite;
 - b) controlează cel mai eficient interacțiunile dintre limfocite T-T și T-B;
 - c) codifică moleculele active în creșterea și suprimarea răspunsurilor imune;
 - d) controlează cel mai eficient liza celulelor tumorale și a celor infectate viral de limfocitele T citotoxice.
2. Gene ale răspunsului imun (Ir) determină capacitatea individului de a răspunde la un anumit determinant antigenic*
3. Gene ale supresiei imune (I_S) controlează stimularea limfocitelor T supresoare specifice*
4. Antigenele Ia sînt antigenele majore responsabile de reacția limfocitară mixtă (MLC) și reacțiile de grefă – contra gazdei (GVH).
5. Gene implicate în sinteza unor mediatori biologici activi produși de limfocitele T, B și macrofage și cu activitate asupra acestora
6. Gene care determină susceptibilitatea la boli alergice și autoimune, precum și rezistența la infecții virale (prin procese care pot fi legate de genele CI sau Ir sau de ambele)

(B) Alte regiuni

1. Antigene majore și minore de transplantare (responsabile de respingerea grefelor și tumorilor) (regiunile K, D și probabil L la șoarece; HLA-A, B, C la om)
2. Interacțiunea cu virusurile (regiunile K/D)
3. Componentele complementului (regiunea S).

* Nu se poate încă aprecia dacă genele Ir și I_S sînt sau nu distincte de genele CI.

Așa cum reiese din fig. 22.14, 22.18 și 22.19, în reglarea reacțiilor imune există o restricție de histo-compatibilitate, și anume limfocitele T nu pot să coopereze cu macrofagele sau cu limfocitele B dacă acestea au molecule de Ia diferite de cele proprii. Acest fenomen îngreșează mult aria de utilizare a imunității adoptive și totodată explică eșecurile obținute la această modalitate de imunoterapie (vezi capitolul „Principii de tratament imunologic în cancer”). Imunoterapia adoptivă, cu limfocite T sensibilizate este eficientă numai în cadrul restrîns în care cele două animale (donatorul și receptorul) sînt histo-compatibile pentru regiunea I (indiferent de compatibilitatea pentru regiunile K și D, respectiv la om pentru HLA-A, B și C).

22.2.3.3.

Rolul MHC în activitatea citotoxică a limfocitelor T

Restricția, determinată de MHC, apare și la celulele efectoare, adică limfocitele T citotoxice (T_C). Acest fenomen a fost descris concomitent în 1975 de Zinkernagel și Doherty în cazul celulelor infectate viral, de Shearer și colab. în reacțiile de hipersensibilitate întârziată și de Bevan la antigenele minore de histo-compatibilitate. Așa cum am mai arătat, antigenele codificate

de regiunile H—2D și H—2K (similar cu antigenele HLA—A, B și C) sînt considerate antigene puternice de histo-compatibilitate. Ele sînt recunoscute în procesele de respingere a alogrefelor și sînt totodată ținta majoră pentru limfocitele T citotoxice, aloreactive. Zinkernagel și Doherty au evidențiat însă un fenomen surprinzător. Limfocitele T citotoxice provenite de la un animal (A) imunizat față de un virus sînt capabile să distrugă celulele infectate cu acel virus numai dacă provin din propriul organism sau de la un alt animal (B) cu aceleași antigene de histo-compatibilitate. În cazul în care celulele au antigene H—2K și H—2D diferite, ele nu sînt distruse. Neoantigenul viral de pe membrana celulelor infectate este recunoscut de limfocitele T citotoxice, deoarece ele lizează celulele proprii dacă sînt infectate, dar nu le lizează pe cele sănătoase. Fenomenul descoperit pare să fie paradoxal: de ce celulele citotoxice nu sînt capabile să distrugă o celulă de două ori străină, posedînd atît antigene de histo-compatibilitate străine, cît și neoantigene virale străine? Se știe că ambele, luate separat, sînt ținta limfocitelor T_c. Cu toate acestea, restricția de histo-compatibilitate funcționează atît *in vitro* cît și *in vivo* și nu numai în infecțiile virale, ci și în cazul celulelor modificate chimic, al antigenelor de histo-compatibilitate minore, hipersensibilității întîrziate sau cancerelor induse viral, deci este un fenomen general. Se pare, deci, că limfocitele efectoare citotoxice recunosc antigenele străine numai în contextul antigenelor de histo-compatibilitate proprii, așa cum limfocitele T_H reacționează cu antigenele străine numai în prezența moleculelor de Ia proprii.

Pentru explicarea mecanismului prin care se realizează această dublă recunoaștere, au fost propuse două modele (aplicabile și la cooperarea celula T — macrofag):

a) modelul cu 2 receptori distincți de recunoaștere pe T_c: unul pentru antigenele proprii din MHC (care diferă de receptorul pentru aloantigene) și unul separat pentru neoantigene virale (sau de altă natură). Pentru declanșarea activității citolitice ar fi deci necesare două semnale date de interacțiunile cu antigenele corespunzătoare ale ambilor receptori (fig. 22.20 A);

b) modelul cu 1 receptor presupune existența unui receptor cu situs de combinare mai larg, care recunoaște un complex format din antigenele de histo-compatibilitate proprii și neoantigen, cu alte cuvinte antigenele proprii alterate. În acest caz, un singur semnal este suficient pentru declanșarea acțiunii litice (fig. 22.20 B).

Încă nu se știe care din cele două modele ipotetice este cel real. În plus, ambele modele ar trebui să explice și paradoxul creat de existența citotoxicității marcate față de celulele alogene, concomitent cu restricția demonstrată în citotoxicitatea față de antigenele străine sau antigenele de histo-compatibilitate minore. Elucidarea acestei probleme este extrem de importantă, deoarece majoritatea antigenelor tumorale sînt asemănătoare cu aceste antigene minore: TSTA, neoantigenele virusurilor oncogene și chiar antigenele tumorilor spontane.

22.2.4.

Mecanismele efectoare (citotoxice) în cancer

In vitro, liza celulelor maligne poate fi realizată prin mai multe mecanisme efectoare: limfocitele T citotoxice, prin produsul limfocitelor B, adică anticorpii specifici antitumoralii, celulele ucigașe sau K („killer“), celulele ucigașe spontane sau nativ ucigașe NK („natural killer“) și macrofagele (fig. 22.21).

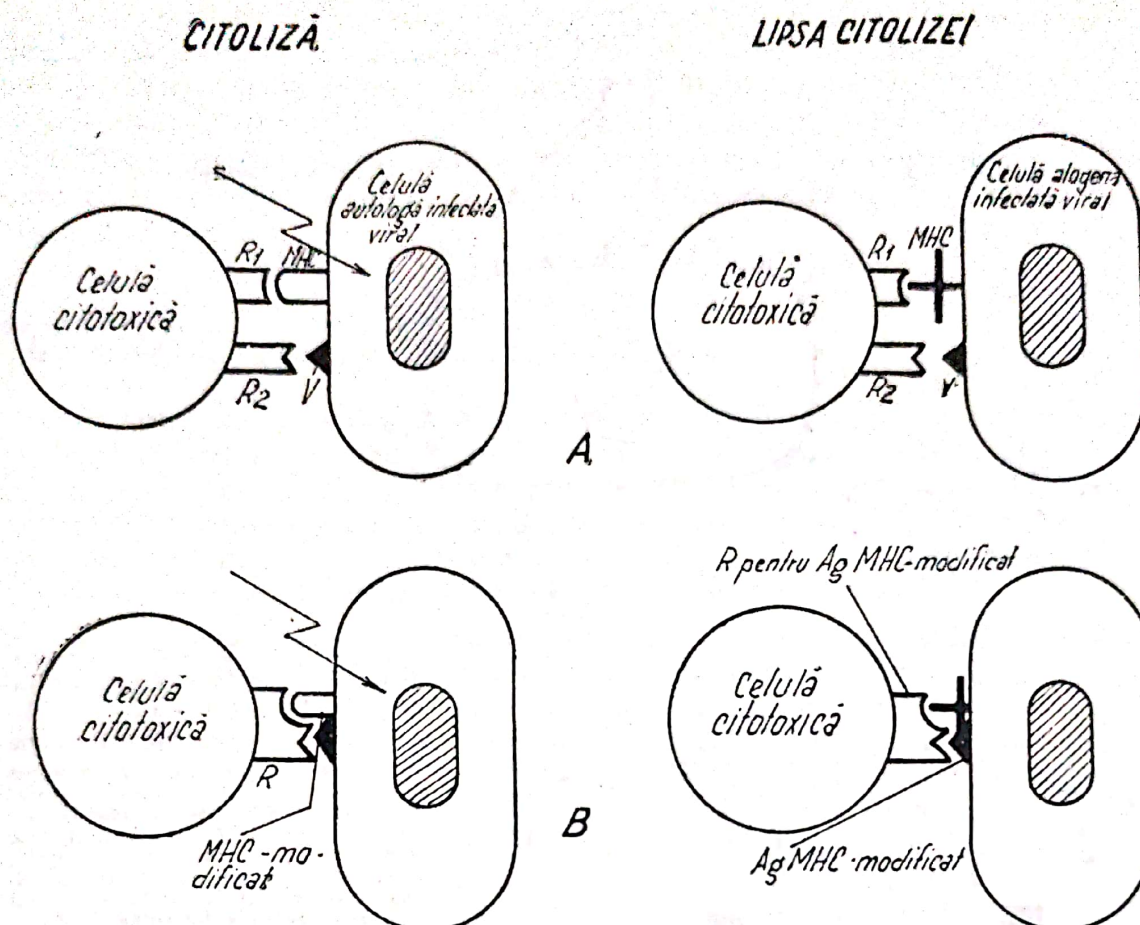


Fig. 22.20. — Mecanismele ipotetice prin care se realizează restricția de histo-compatibilitate a citotoxicității.

(A) Modelul cu 2 receptori: R_1 = receptor pentru antigenele de histo-compatibilitate proprii (HLA); R_2 = receptor pentru antigenele virale sau induse de virus (V); (B) Modelul cu un singur receptor pentru antigenele HLA modificate de antigenele virale.

În stînga (sus și jos) distrugerea celulei infectate (săgeata) datorită recunoașterii ei ca fiind celulă proprie alterată („potrivirea” receptorilor). În dreapta (sus și jos) citoliza nu are loc, deoarece celula nu este recunoscută ca proprie (nu se „potrivesc” receptorii pentru HLA).

22.2.4.1.

Anticorprii

Anticorprii antitumorali pot să fie dirijați: a) împotriva componentelor citoplasmaticale ale celulelor, anticorpi care nu sînt citotoxici și a căror semnificație în evoluția tumorii nu se cunoaște, sau b) împotriva componentelor membranelor celulare, anticorpi care pot fi citotoxici. Amintim că aceste componente membranale, inductoare de anticorpi, pot fi nu numai antigenele tumorale specifice, ci și antigenele de organ sau de diferențiere, prezente și pe celulele normale.

Anticorprii dirijați împotriva componentelor de pe suprafața membranelor celulare pot să acționeze în mod diferit asupra celulelor canceroase (fig. 22.22):

— prin legarea complementului și activarea lui pot să provoace liza celulelor — citotoxicitatea umorală mediată de anticorpi și complement (fig. 22.22 A);

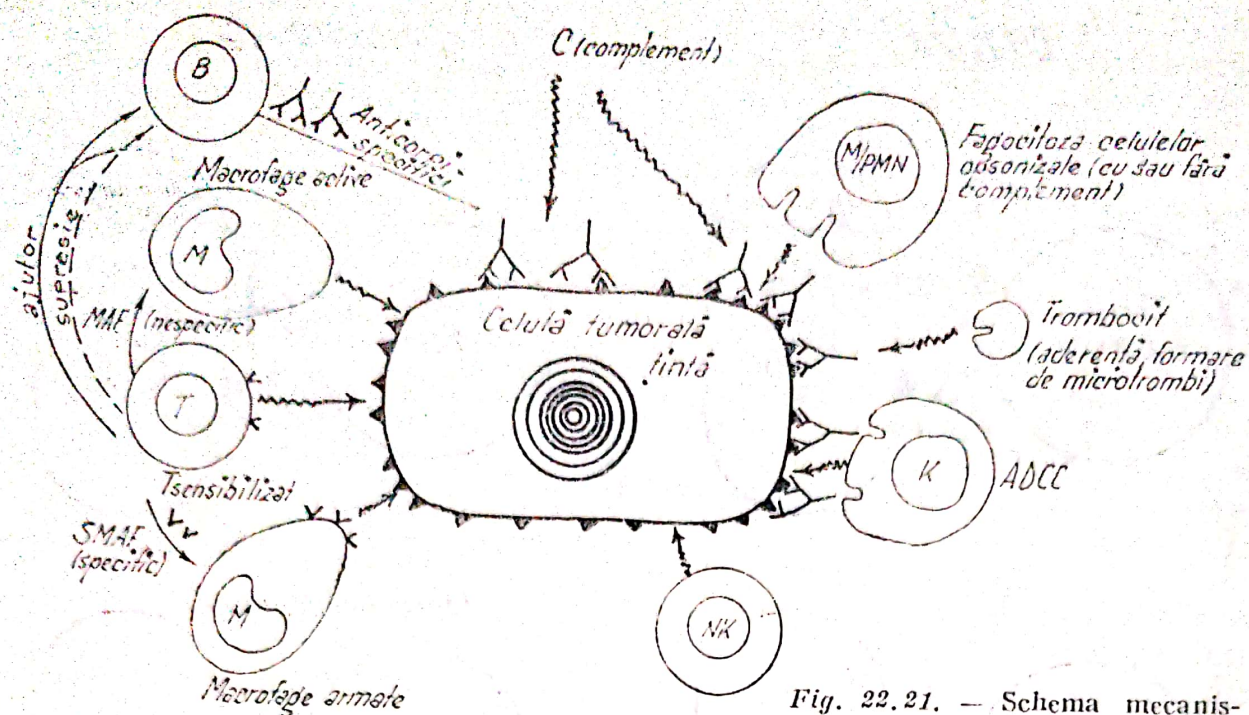


Fig. 22.21. — Schema mecanismelor efectoare ale citolizei celulelor tumorale.

T — limfocit T_C ; B = limfocit B; M = monocit/macrofag; K = celulă ucigașă (killer); NK = celulă natural ucigașă; PMN = polimorfonucleare (granulocite); ADCC = citotoxicitate celulară dependentă de anticorpi; SMAF = factorul de armare specifică a macrofagelor; MAF = factorul de activare a macrofagelor.

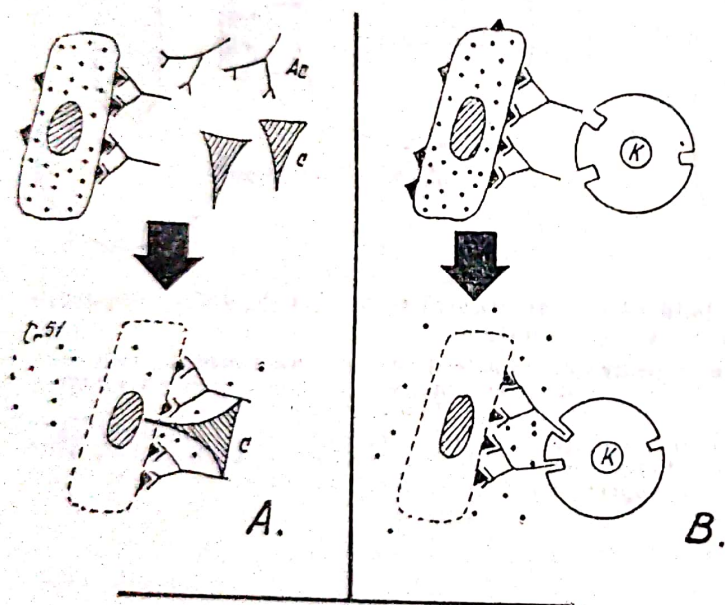


Fig. 22.22. — Efectele posibile ale anticorpilor antitumorali, evidențiabile prin testul de eliberare a cromului radioactiv (Cr^{51}). (A) Liza celulelor tumorale prin anticorpi (Ac) și complement (C) cu eliberarea Cr^{51} . (B) Citoliza produsă de celulele K în prezența anticorpilor (ADCC). (C) Blocarea activității citolitice a limfocitelor T citotoxice (T_c) prin mascarea antigenelor tumorale de către anticorpii antitumorali nefixatori de complement (Gergely, 1979, modificat).

— pot să distrugă celulele cu ajutorul celulelor K, citotoxicitatea mediată celular, dependentă de anticorpi, prescurtat ADCC („Antibody Dependent Cell-mediated Cytotoxicity”) sau cu ajutorul macrofagelor (fig. 22.22 B);

— pot să aibă un efect opus, de stimulare, de favorizare a creșterii tumorilor, atunci când anticorpul nu sînt fixatori de complement și prin îmbrăcarea celulelor tumorale le ferește de acțiunea citotoxică a limfocitelor T (fig. 22.22 C).

22.2.4.1.1.

Citotoxicitatea mediată de anticorpi și complement

În sistemele singenice această formă de citotoxicitate a putut fi pusă în evidență numai în leucemii și tumori induse de virusuri ARN și este absentă în cancerele induse chimic sau de virusuri ADN. S-a dovedit ulterior că anticorpul citotoxic demonstrat în diferite sisteme experimentale mai vechi erau dirijați împotriva antigenelor de histo-compatibilitate alogene (erau anticorpi antiantigene de transplantare străine, nu antitumorali).

La oameni, prezența acestei forme de citotoxicitate umorală poate fi evaluată numai prin metode *in vitro*. Au fost semnalati anticorpi citolitici în serul bolnavilor cu diferite forme de cancer: mamar, de colon, melanoame, neuro-blastoame și sarcoame. În general, nivelul acestor anticorpi este ridicat în tumorile localizate, dar scade brusc, pînă la dispariție, puțin înainte de apariția metastazelor la distanță. Unii autori consideră că datorită fixării anticorpilor pe un număr sporit de celule se realizează o scădere a nivelului lor seric, deci această dispariție ar fi o consecință a metastazării. În 1976 Lewis și colab. sugerează rolul acestor anticorpi nu numai în liza celulelor tumorale, dar și în prevenirea aderării acestor celule circulante de pereții vaselor sangvine. Potrivit părerii acestor autori, dispariția anticorpilor antitumorali se datorează apariției anticorpilor antiidiotip, adică a anticorpilor antianticorpi tumorali. Anticorpul antiidiotip blochează fixarea anticorpilor specifici antitumorali de celulele maligne, favorizînd în acest mod metastazarea (fig. 22.23). Metastazarea ar fi deci o consecință a formării de complexe între anticorpul antitumoral și anticorpul antiidiotip. Anticorpul antiidiotip au fost constatați în unele tumori umane: mieloame, limfoame, melanoame și alte tumori solide, fapt care sugerează că dezvoltarea și metastazarea acestor tumori nu se datorează unei absențe a reacției imune provocată de lipsa antigenelor tumorale sau caracterului slab imunogen al acestora, ci sînt consecința unei dereglări a reacției imune provocată de stimularea cronică exercitată de celulele maligne. Această stimulare cronică poate să provoace apariția antianticorpilor, ca și în cazul infecțiilor cronice cu germeni Gram-pozitivi, lepră, malarie, artrita reumatică, lupus eritematos etc.

Acțiunea citolitică a anticorpilor antitumorali este dependentă de unii factori, ca de exemplu:

- a) densitatea antigenelor de pe suprafața celulelor tumorale; susceptibilitatea la liză este direct proporțională cu densitatea acestor antigene;
- b) sursa de complement. Uneori, în mod paradoxal, hepatoamele de cobai sînt mai sensibile la complementul de origine umană decît la cel de cobai;
- c) faza ciclului celular: unele limfoame sînt sensibile în faza G_1 și relativ rezistente în G_0 sau S (vezi ciclul celular);

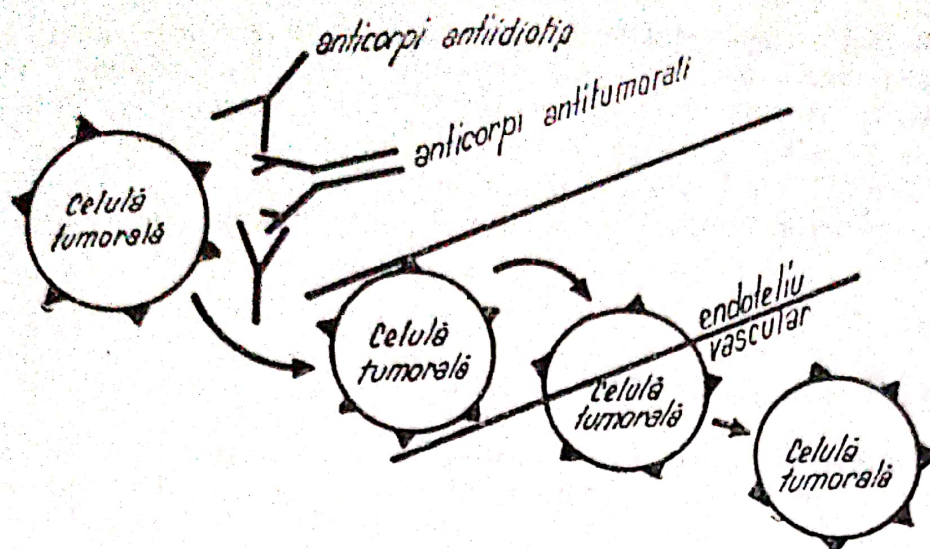


Fig. 22.23. — Blocarea anticorpilor tumorali de către anticorpii anti-idiotip (antianticorpi). Eșecul controlului imun umoral în prevenirea metastazării (Lewis și colab., 1976).

- d) capacitatea de refacere a leziunilor membranei provocate de complement. Boyle și colab. susțin că liza celulelor tumorale se petrece în 2 etape:
- prima $T \rightarrow T^*$ duce la transformarea celulei în celulă tumorală activată T^* (faza I—III pe fig. 22.24);
 - a doua $T^* \rightarrow$ celulă moartă, distrusă (fig. 22.24).

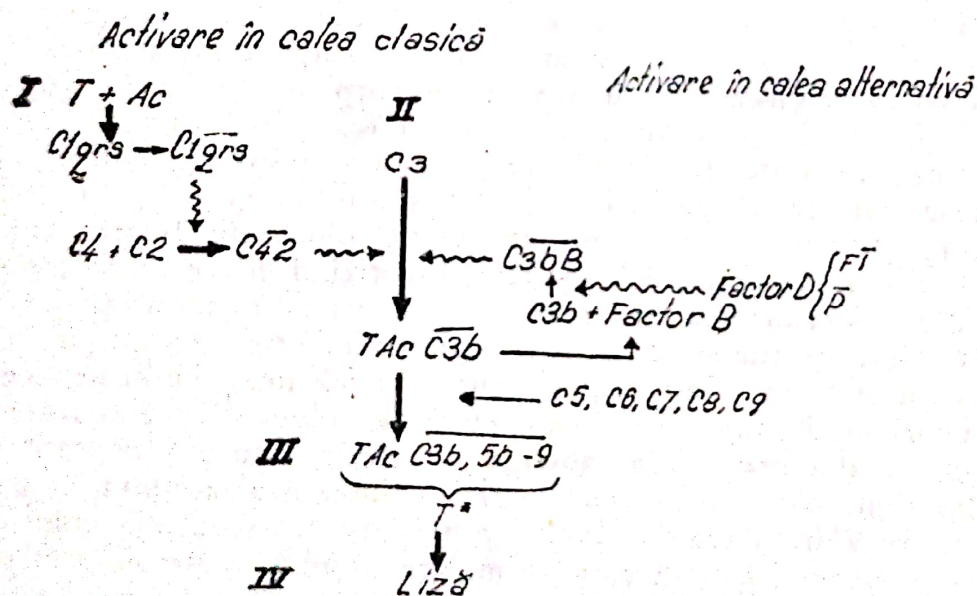


Fig. 22.24. — Schema lizei celulei tumorale (T) indusă de anticorpi (Ac) și complement. Complexul $T+Ac$ rezultat din faza I (de sensibilizare) declanșează activarea complementului (faza II), care este reprezentat de factori sau componente serice. În calea clasică intervin: $C1q, C1r, C1s, C4, C2$ care activează $C3$. Linia înscrisă deasupra componentelor complementului sau a fragmentelor sale reprezintă forma lor activată (exemple: $C12, C3b$ etc.). În calea alternativă complexului $T.Ac.-C3b$ este format prin acțiunile: factorului de inițiere (FI) și properdinei (P) asupra factorului B (proactivatorul lui $C3$) și D (convertiza proactivatorului). Faza III, de instalare a leziunilor membranei celulelor tumorale, este realizată de acțiunea $C5-C9$, având ca efect transformarea celulei în celulă tumorală activată (T^*). În faza IV are loc liza explozivă a celulei T^* .

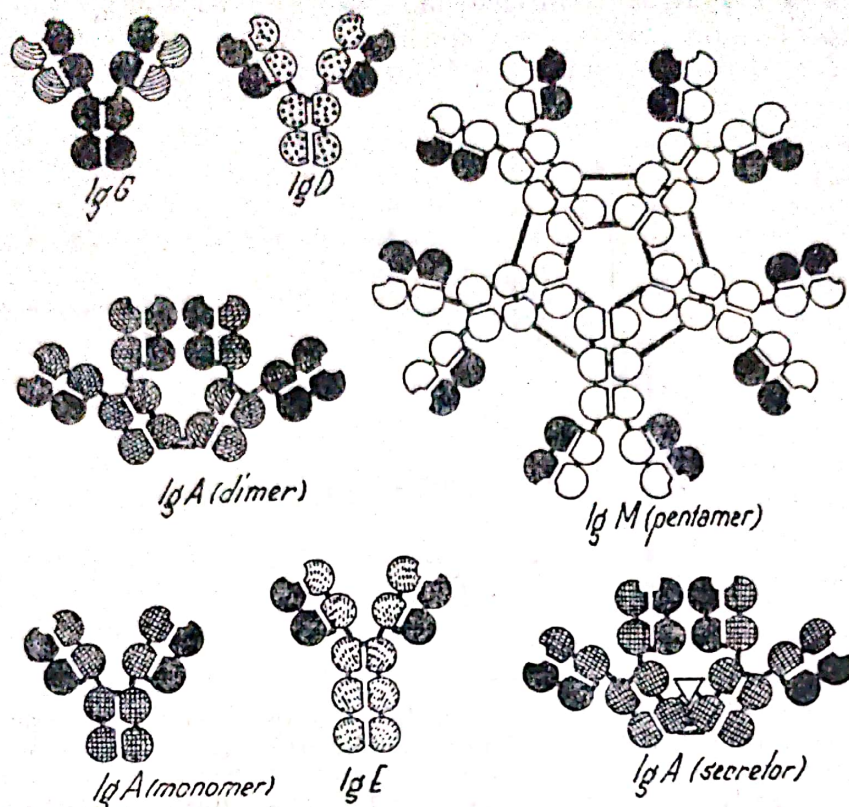


Fig. 22.25. — Reprezentarea schematică a structurii diferitelor clase de imuno-globuline: IgG, IgM (pentamer), IgA (monomer, dimer și secretor), IgD și IgE. Se remarcă zonele de legare a antigenului, lanțurile ușoare (L) și grele (H). Lanțurile L pot fi de 2 tipuri: kappa (K) și lambda (λ), iar lanțurile H sînt de 5 tipuri specifice însă pentru fiecare clasă: γ (IgG), α (IgA), μ (IgM), δ (IgD), ε (IgE).

Rezistența celulelor tumorale, în special *in vivo*, la acțiunea litică a anticorpilor antitumorali plus complement s-ar datora capacității crescute a acestora de a-și repara rapid leziunile membranale induse de complement, deci de a evita etapa a doua.

e) clasa și subclasa de anticorpi produși ca răspuns la antigenele tumorale. Anticorpul din clasa IgM sînt foarte eficienți în activarea complementului; legarea de celulă a unei singure molecule de IgM este suficientă pentru a determina liza ei. IgG este mult mai puțin eficientă: este necesară legarea adiacentă a 2 molecule de IgG, deci aproximativ 800 de molecule trebuie să se lege pentru a avea 2 molecule adiacente care să activeze complementul. În plus, subclasa IgG₄ este ineficientă, deoarece nu activează complementul (fig. 22.25).

22.2.4.1.2.

Citotoxicitatea dependentă de anticorpi mediată celular

Citoliza celulelor tumorale poate să aibă loc în prezența unor cantități mici de anticorpi de tip IgG insuficienți pentru a induce liza prin complement, prin intermediul celulelor K sau al macrofagelor. În ambele cazuri, anticorpul sînt componenta specifică a reacției, iar celulele citotoxice componenta nespecifică. Specificitatea este dată de fixarea anticorpilor — prin

porțiunea Fab („Fragment antigen binding”) — de celula tumorală țintă, adică de celula contra căreia sînt specificați (fig. 22.22 B, fig. 22.26). Porțiunea Fc („Fragment crystallizable”) se leagă apoi de receptorii pentru Fc

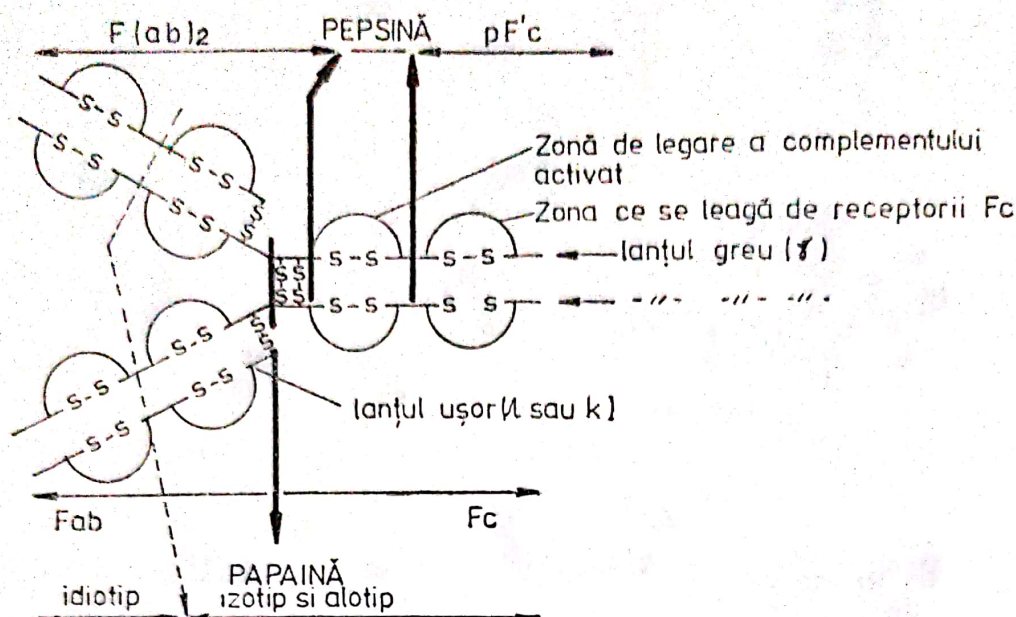


Fig. 22.26. — Structura moleculei de IgG. Lanțurile ușoare L („light”) și grele H („heavy”) sînt formate din regiuni cu structura variabilă (LV, HV) și regiuni cu structura constantă (LC; HC1, HC2; HC3). Lanțul ușor în totalitate și o parte din lanțul greu (HV + HC1) formează fragmentul Fab („antigen binding”). Regiunile constante ale lanțului greu (HC2 și HC3) formează fragmentul Fc („fragment crystallizable”). Pe Fc sînt zonele de legare de receptorii Fc (receptori Fc ai macrofagelor, PMN, celule K etc.) și de fixare și activare a complementului. În figură sînt arătate regiunile responsabile de diferențele de izotip (comune pentru indivizii unei specii), alotip (diferențe individuale în cadrul aceleiași specii) și de idiotip (diferențe între anticorpi cu specificitate diferită).

prezenți pe celulele K, granulocite și pe macrofage. Această legare poate fi inhibată de imunoglobulina agregată sau de complexe solubile antigen-anticorp, fenomen care va fi descris detaliat în subcapitolul mecanismelor de „scăpare” a tumorilor de reacțiile imune antineoplazice.

22.2.4.2.

Limfocitele T

Importanța imunității mediată celular în apărarea antitumorală a fost demonstrată inițial de studiile de transplantare. S-a observat că limfocitele imunologic active, recoltate de la animale donatoare imunizate față de sarcoamele induse chimic, pot să determine respingerea grefelor de sarcom la animalele singene normale. Reacția este specifică, deoarece respingerea interesează numai transplantate provenite din sarcomul cu care s-a obținut imunizarea și nu au nici o acțiune asupra altor sarcoame, chiar dacă sînt induse de același carcinogen. Acțiunea acestor limfocite imune se validează dacă sînt inoculate o dată cu celulele tumorale și este mult mai mic dacă sînt administrate sistemic (i.v.). Surprinzător, administrarea celulelor imune, chiar în doze mari, nu determină respingerea tumorilor deja stabilizate, indiferent dacă sînt primare sau transplantate.

Faptul că limfocitele imune pot să determine respingerea grefelor tumorale, în contrast cu anticorpii care sînt de obicei ineficienți, a dus la acreditarea rolului major al imunității mediate celular în imunitatea antitumorală. Această concepție a fost susținută de date experimentale care au demonstrat că aplicarea unor metode care diminuau selectiv imunitatea celulară, ca: timectomia neonatală, serul antilimfocitar, fistula cronică a canalului toracic, determină o creștere a toleranței față de grefe tumorale alogene (care în mod normal sînt respinse) și la o stimulare a creșterii tumorilor singene.

Pentru a se demonstra acțiunea limfocitelor asupra tumorilor s-a recurs fie la testarea sensibilizării lor (prin reacții de evidențiere a hipersensibilității întârziată), fie la testarea capacității lor citotoxice (vezi Capitolul „Testele de explorare a imunității la bolnavii cu cancer”).

22.2.4.2.1.

Sensibilizarea la antigenele tumorale

Testarea sensibilizării limfocitelor la antigenele tumorale a fost realizată *in vivo* și *in vitro*, în sisteme experimentale și în cancerurile umane. Studiarea gradului de sensibilizare a fost stimulată de cercetările lui Oettgen și colab. (1968), care au arătat că rezistența la tumoare implică reacții de hipersensibilitate întârziată. Animalele imunizate față de o tumoare indusă chimic, care prezintă o reacție de hipersensibilitate întârziată pozitivă la antigenele tumorale (injectate intradermic) sînt rezistente la transplantarea acestei tumori. Ele nu vor respinge însă alte tumori, lipsite de antigenele față de care au manifestat reacția de hipersensibilitate întârziată. S-a conchis astfel, că sensibilizarea la antigenele tumorale și prezența reactivității imune (în special hipersensibilitatea întârziată) sînt o dovadă de imunitate celulară. În literatură există un număr foarte mare de lucrări în care sînt publicate rezultatele obținute prin cele mai variate metode de testare a sensibilizării limfocitelor.

În general, s-a constatat că atît animalele, cît și oamenii cu tumori au limfocite sensibilizate, în proporții variabile. Testele sînt pozitive mai frecvent cînd tumorile sînt mici și localizate și devin negative cînd tumorile sînt mari și diseminate. În plus, proporția răspunsurilor pozitive diferă în funcție de originea limfocitelor: sangvine, splenice, din ganglionii limfatici sau din interiorul tumorilor. În ultimii ani s-au adus unele critici privind semnificația acestor teste în demonstrarea reacțiilor imune antitumorale specifice. Aceste critici se bazează pe absența corelațiilor dintre pozitivitatea testelor și evoluția și prognosticul tumorilor. Însăși specificitatea testărilor este pusă sub semnul întrebării, deoarece s-a constatat posibilitatea producerii nespecifice de limfokine de către limfocite, sub acțiunea unor mitogeni, sau *lectine* izolate din plante (fito-hemaglutinina, concanavalina A, pokeweed mitogen) sau chiar a producerii unor substanțe cu efecte identice cu cele ale unor limfokine de către înseși celulele tumorale.

O ultimă întrebare, dar de importanță majoră, este dacă acești factori, eliberați de limfocite, chiar dacă sînt nespecfici, au sau nu un rol în rejecția tumorilor. Experimental s-a demonstrat că limfokinele determină o amplificare puternică a reacției inflamatorii locale și sînt capabile să distrugă celulele canceroase în unele condiții speciale. Astfel, cancerurile cutanate umane

(melanoame, carcinoame cu celule bazale sau scuamoase) sau grefele cutanate de tumori singene, la animale, sînt distruse în zonele în care se provoacă, prin diferite metode, o reacție de hipersensibilitate întîrziată, de exemplu cu: BCG, C. parvum, dinitro-clorbenzen. Prin aceste metode se realizează o reacție inflamatorie locală foarte puternică, prin care se elimină celulele maligne, care plutesc pe „o mare de puroi” (P. Alexander). Pe de altă parte însă, dacă se injectează un număr mic de celule tumorale singene împreună cu un număr mare de celule tot tumorale, dar alogene, celulele alogene sînt respinse, pe cînd cele singene cresc, deci nu sînt afectate secundar de reacția imună față de celulele alogene.

22.2.4.2.2.

Citotoxicitatea limfocitelor T

Limfocitele T citotoxice sînt capabile să distrugă celulele străine în mod direct, fără intervenția anticorpilor, datorită faptului că dispun de receptori pentru antigenele străine. Eficacitatea lor este dovedită concludent în respingerea alogrefelor și în distrugerea celulelor proprii infectate viral. Rolul lor în distrugerea celulelor maligne a fost evidențiat inițial de soții Hellström în 1967—1971, prin metoda inhibiției coloniilor. Ei au demonstrat că proliferarea *in vitro* sub formă de colonii, a celulelor canceroase, este împiedicată de limfocitele provenite de la animalele imunizate față de aceste celule.

Ulterior au apărut alte metode mai perfecționate de evidențiere a citotoxicității, atât *in vitro*: a) testul de microtoxicitate al lui Takasugi și Klein, care evaluează distrugerea celulelor țintă după expunerea la limfocite, apreciind simultan efectele citotoxice și citostatice; b) testele de eliberare a izotopilor radioactivi (Cr^{51}) din celulele țintă în prealabil marcate cu acest izotop — ale lui Gerottini și Brunner (vezi fig. 22.22.), cit și *in vivo*: Testul Winn (sau de neutralizare), de injectare simultană a celulelor tumorale amestecate cu limfocite sensibilizate la animale normale și urmărirea creșterii tumorilor comparativ cu animalele injectate cu limfocite nesensibilizate plus celule tumorale.

În ultimul timp au fost aduse dovezi concludente asupra faptului că diferitele metode de evidențiere a citotoxicității, deși măsoară în mare același tip de imunitate celulară, nu reflectă aceleași tipuri de interacțiuni tumoare-gazdă, deoarece sînt influențate în mod diferit de perioada de latență, ritmul de creștere, capacitatea de invazie și cea de metastazare a tumorilor *in vivo*.

Cercetările lui Hellström și ale altor autori au atras atenția asupra importanței limfocitelor în apărarea antitumorală și au avut ca rezultat apariția a numeroase lucrări, care au încercat să demonstreze eficiența lor în diverse sisteme experimentale.

Studiile inițiale de citotoxicitate au utilizat preparate nepurificate, suspensii limfocitare care conțineau monocite, macrofage și polimorfonucleare. Mai tîrziu, prin perfecționarea metodelor de purificare, s-a putut demonstra că activitatea citotoxică este dependentă de limfocite și anume de o populație distinctă timus-dependentă (T). Ulterior, și limfocitele T s-au dovedit a fi neomogene, deoarece și ele sînt formate din subpopulații deosebite care nu se pot transforma dintr-una în alta: T_H , T_C , T_S . Pînă în prezent, limfocitele T citotoxice nu au putut fi deosebite prin nici un fel de markeri de limfocitele T supresoare: ele aparțin deci aceleiași subpopulații T_C/T_S care dispun de aceleași antigene de diferențiere, aceiași markeri, deci același fenotip.

Studiile *in vitro* au demonstrat că în general, distrugerea celulelor țintă de către limfocitele T se poate realiza fie prin eliberarea limfotoxinelor (descrise în paragraful anterior), fie prin contact direct. Prin microcinematografie și microscopie cu baleiaj s-a constatat că distrugerea prin contact direct comportă 3 faze distincte:

— în prima fază au loc modificări ale membranei limfocitelor, care le permit să vină în contact cu celula țintă (această fază este blocată selectiv de inhibitori ai fosforilării oxidative, de agenți care întrerup funcția microtubilor sau care cresc AMP ciclic);

— în a doua fază, contactul dintre cele două celule devine foarte strâns, se realizează o coliziune între ele, denumită de unii autori „sărutul morții” (fază dependentă de ioni de Mg^{2+} și Ca^{2+});

— în ultima fază apar leziuni ale membranei celulei țintă, care determină apariția unor protuberanțe (similare bulelor de aer de pe suprafața apei care fierbe, fenomen denumit zeioză) și concomitent sînt eliberate componente citoplasmice (Cr^{51}), semn de moarte a celulei.

După distrugerea celulei, limfocitul T_c poate să treacă la altă celulă țintă și ciclul ucigaș reîncepe.

Faptul că activitatea distructivă a limfocitelor T_c a putut fi demonstrată *in vitro*, nu înseamnă neapărat că în cancer ea se poate reproduce și *in vivo*. Testarea *in vitro* se face în condiții optime în care raportul dintre limfocitele T_c și celulele tumorale este mare și nu intervin factorii blocați, care de obicei sînt prezenți *in vivo* (vezi mecanismele de „scăpare” ale tumorilor).

În plus, cercetările din ultimii ani ale lui Vánky și Vose, Klein și Stjernswärd (1979—1980) au demonstrat concludent, în sisteme autoloage, că există diferențe remarcabile între stimularea limfocitelor de către celulele canceroase și citotoxicitatea lor. Autorii au observat că limfocitele intratumorale sînt sensibilizate și antigenreactive în 68% din tumorile maligne umane, dar numai în 27% există limfocite T_c (studiul a fost făcut pe 198 de cazuri). Deci, testele de sensibilizare și de citotoxicitate măsoară două aspecte deosebite ale imunității antitumorale: testele de sensibilizare decelează, probabil, limfocitele T cu memorie, care apar mai târziu, ating un maximum la 30 de zile și sînt decelabile în toată perioada dezvoltării tumorii, așa cum rezultă și din cercetările pe animale. Testele de citotoxicitate apar mai repede, au activitate maximă la 10—12 zile și apoi se negativează.

Prin aprofundarea cercetărilor și prin folosirea limfocitelor purificate, s-a constatat un fenomen surprinzător: efectul citotoxic asupra celulelor maligne nu este apanajul exclusiv al limfocitelor T imune, deoarece și animalele sănătoase posedă celule capabile să distrugă celulele tumorale la fel, sau chiar mai bine decît cele cu tumori. Aceste celule ucigașe naturale, NK, există deci, indiferent dacă un animal a fost sau nu imunizat față de o anumită tumoare sau dacă are sau nu o tumoare. Fenomenul a fost demonstrat într-un număr mare de laboratoare. S-au acumulat dovezi că, deși celulele T_c prezintă activitate citotoxică tumorală *in vitro*, eficacitatea lor *in vivo* este nesemnificativă. Ele au un rol esențial în respingerea alogrefelor (de țesuturi normale sau tumorale) și în apărarea antivirală (probabil și în cancer).

induse viral), unde activitatea lor citotoxică este dependentă de sistemul major de histo-compatibilitate (vezi secțiunea 22.2.3.3.). În cancer însă, rolul major se pare că îl au celulele K și NK.

22.2.4.3.

Celulele K

Celulele K („killer”) sau ucigașe sînt celule limfatice care nu au markerii caracteristici nici pentru limfocitele B (imunoglobulina de suprafață), nici pentru cele T (rozetarea spontană cu eritrocite de oaie). Natura acestor celule a fost mult timp controversată, dar în ultimul timp s-au semnalat dovezi pentru originea lor limfocitară. Ele aparțin celei de a treia populații limfocitare denumită inițial celule „nule”, apoi non-T-non-B sau neclasificate, care constituie o proporție mică, 4—6% din limfocitele sangvine. În ultimul timp au apărut din ce în ce mai multe date care susțin ipoteza naturii limfocitare T a celulelor K și NK (vezi secțiunea 22.2.4.4.).

Celulele K sînt capabile să inducă liza celulelor tumorale în prezența unor cantități mici de anticorpi antitumorali și în absența complementului (fig. 22.22 B). *In vitro* s-a văzut că această liză poate să aibă loc în două moduri:

a) prin „sensibilizare”, atunci cînd într-o primă fază anticorpii specifici acoperă celulele tumorale țintă, urmată de faza a doua, de prindere a celulelor K via porțiunea Fc a acestor anticorpi (fig. 22.26). Această modalitate este cea mai eficientă și se pare că ea acționează de fapt și *in vivo*;

b) prin „armare”, în care succesiunea fazelor este inversă: legarea anticorpilor se face inițial la celulele K („armarea” celulelor) tot prin regiunea Fc și ulterior are loc fixarea de celulele țintă prin porțiunea Fab (fig. 22.26). ADCC realizată prin armare necesită de 10 ori mai mulți anticorpi decît cea prin sensibilizare, de aceea este puțin probabil ca acest ultim proces să aibă o pondere semnificativă *in vivo*.

22.2.4.4.

Celulele NK

Celulele natural ucigașe NK au fost descoperite în ultimii ani în urma unor cercetări care, pentru a demonstra activitatea citotoxică specifică a limfocitelor T de la animalele cu tumori, au folosit ca martore negative limfocitele nesensibilizate, de la animale normale. Treptat s-a observat că unele limfocite de la martorii normali sînt mai citotoxice față de unele celule canceroase decît limfocitele animalelor cu tumori. Inițial s-a considerat că această citotoxicitate „anormală” este un simplu artefact de laborator, datorită unor greșeli în metodologia de testare, dar ulterior s-a văzut că fenomenul este real. El este determinat de limfocite, care nu au caracterele specifice nici ale celulelor T, nici ale celor B sau ale monocitelor și sînt prezente la numeroase specii de animale: om, primate, șoareci, șobolani, cobai, hamsteri, găini. Trăsăturile caracteristice ale acestor celule sînt preexistența (există în organisme la care nu s-au inoculat celule străine) și activitatea lor spontană (nu necesită o sensibilizare prealabilă). Deoarece sînt preexistente și gata de distrugere, au fost denumite celulele nativ sau natural ucigașe — NK.

22.2.4.4.1.

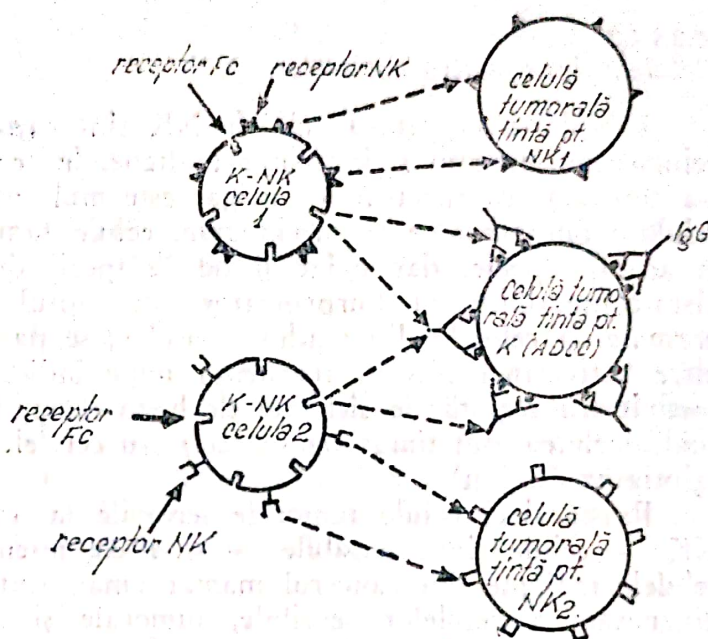
Asemănările dintre celulele NK și K.

Există, în general, o suprapunere largă între celulele NK și K, care sugerează o înrudire (fig. 22.27):

a) ambele posedă receptori pentru fragmentul Fc al imunoglobulinei G (FcR^+);

b) numărul lor diferă de la un individ la altul, fiind determinat genetic (la șoareci de gene din regiunea H—2). Persoanele cu niveluri crescute de NK au și celule K crescute și invers;

Fig. 22.27. — Modelul schematic al efectelor citotoxice ale celulelor K și NK asupra diferitelor tipuri de celule tumorale. Activitatea citotoxică a celulelor K este realizată prin intermediul anticorpilor (ADCC) pentru care prezintă receptori specifici (receptori Fc). Citoliza prin NK se realizează direct datorită prezenței unor receptori specifici pentru celulele tumorale. Cele două tipuri de receptori sînt situați separat (Herberman și colab. 1979).



c) distribuția lor tisulară este similară: sînt absente în timus, rare în ganglionii limfatici și amigdale, dar frecvente în splină și sînge;

d) ambele sînt scăzute la animalele cu cancer;

e) sînt stimulate puternic de interferon;

f) la om sînt relativ sensibile la iradiere (*in vitro* scad puternic la 18 ore după 1 000 R). La animale sînt moderat rezistente;

g) reacționează încrucișat la procesele de adsorbție și de inhibiție (celulele țintă sensibile la NK adsorb celulele K și inhibă activitatea lor ADCC);

h) nu posedă markerii caracteristici nici pentru limfocitele B, nici pentru T mature.

i) nu fagocitează și nu sînt aderente (de sticlă sau plastic), deci nu sînt monocite mature.

Natura acestor celule a constituit și constituie încă subiectul unor cercetări și dispute. În ultimii ani, Herberman susține originea limfocitară pre-T a celulelor K și NK. Argumentele aduse, confirmate și de alte laboratoare, sînt: a) la om: prezența receptorilor de mică afinitate, pentru eritrocitele de oaie, faptul că sînt distruse de serul antilimfocite T în prezența complementului, că răspund la factorul de creștere al limfocitelor T — interleukina 2 — și că, sub influența hormonilor timici, se maturează pierzîndu-și activitatea NK; b) la șoareci prezența antigenului caracteristic pentru limfocitele T, antigenul Thy-1, dar cu o densitate mai mică decît pe membrana limfocitelor T. Nu este încă exclusă complet nici posibilitatea ca celulele NK să fie premonocite, sau chiar celule precursori mai tinere, mai apropiate de celula sușă din măduva osoasă (celule M). S-ar putea ca însăși populația celulară NK să fie eterogenă, să fie compusă din mai multe tipuri de celule. Un argument în acest sens îl constituie faptul că o treime din celulele NK posedă receptori pentru complement, în timp ce

celelalte două treimi nu. Nu este exclus ca celulele NK, cu aspectul lor de limfocite mari cu granulații azurofile (LGL), să reprezinte o populație celulară distinctă care face legătura dintre limfocite și monocite.

Între celulele K și NK există totuși unele diferențe (în afara modului lor diferit de acțiune): celulele NK sînt sensibile la tripsina și corticosteroizi, pe cînd celulele K nu sînt. Invers, inhibiția realizată de antianticorpi, proteina A a stafilococilor și de complexe imune solubile, ale celulelor K, este absentă la NK (NK sînt chiar stimulate de proteina A stafilococică). Ambele sînt însă inhibitate de complexe imune celulare (vezi mecanisme de „scăpare” — secțiunea 22.3.).

22.2.4.4.2.

Celulele țintă pentru activitatea NK

Inițial s-a crezut că celulele NK sînt capabile să distrugă numai liniile celulare de leucemii și limfoame maligne, în special celulele K—562. Ulterior s-a constatat că spectrul lor ucigaș este mult mai larg, cuprinzînd unele linii celulare de sarcoame și carcinoame, celule tumorale provenite nu numai de la aceeași specie, dar chiar și de la specii diferite (deci fără restricții de histo-compatibilitate). Surprinzător este faptul că ele pot să distrugă celule normale ca celulele din măduva oaselor; se pare că există o strînsă corelație între activitatea NK și rezistența unor indivizi la transplantarea măduvei (activitatea reglată de sistemul de histo-compatibilitate Hh). În plus, pot să ucidă celulele din timus (la șoareci) sau celulele timice stimulate cu fito-hemaglutinină (la om).

Există deci celule tumorale sensibile la acțiunea distructivă a celulelor NK — celule țintă sensibile — și altele insensibile, rezistente (de exemplu celulele maligne din cancerul mamar uman sînt mult mai rezistente). Marea diversitate a celulelor sensibile, tumorale și normale, se explică probabil printr-o mare varietate de receptori de pe membrana celulelor NK, receptori capabili să recunoască antigene foarte diferite (fig. 22.27).

22.2.4.4.3.

Stimularea citotoxicității NK — celule NK activate

S-a constatat că nivelul celulelor NK depinde nu numai de factorii genetici amintiți, ci și de vîrsta animalului (mai ales la rozătoare). Șoarecii tineri încep să aibă activitate NK la 2—3 săptămîni, ating valorile maxime la 5—8 săptămîni, pentru ca la 12 săptămîni activitatea să scadă mult, pînă la dispariție. La aceste animale cu activitate NK neglijabilă, se poate obține însă o creștere puternică a nivelurilor NK cu ajutorul interferonului sau al unor produse care determină sinteza de interferon, ca: virusurile, adjuvanții bacterieni (BCG, *C. parvum*, endotoxine), poli I: C (un ARN sintetic dublu catenar poliinozinic — policitidinic), sau chiar de celulele tumorale susceptibile la acțiunea NK (fig. 22.28).

Studiile *in vivo* și *in vitro* au demonstrat că reglarea activității celulelor NK este asigurată de macrofage prin intermediul interferonului. Alterarea funcțională a macrofagelor (prin siliciu sau carrageenan) duce la o scădere marcată a activității NK, scădere ce poate fi corectată prin administrarea interferonului. Adjuvanții bacterieni poli I:C etc. acționează în special pe macrofage, pe care le stimulează, determinînd producerea de interferon. Interferonul, la rîndul său, stimulează NK, le activează (fig. 22.28).

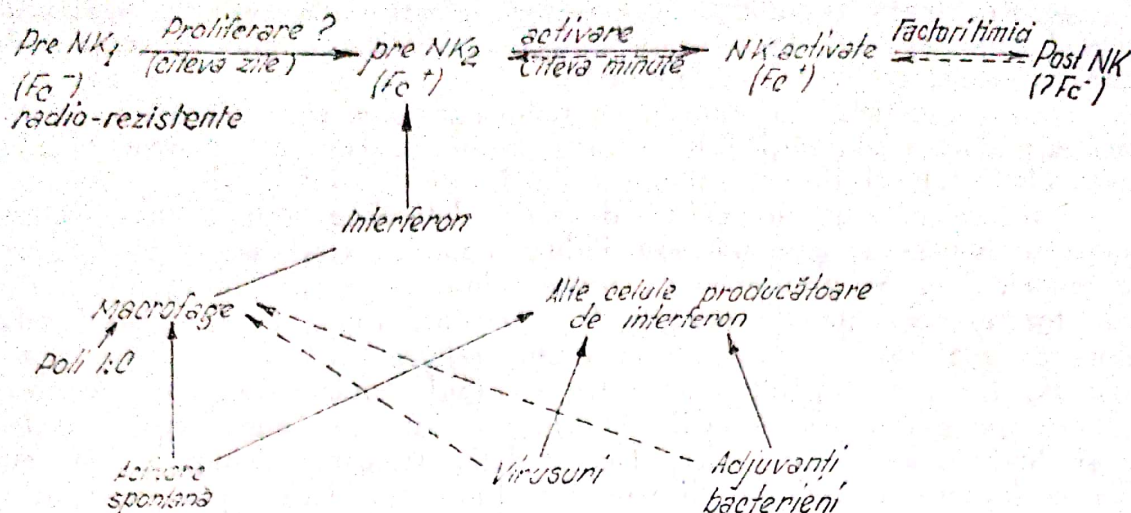


Fig. 22.28. — Schema probabilă a modului în care se face activarea celulelor NK de către interferon; ? = etape ipotetice (Herberman și colab., 1979, modificat).

Deoarece nu numai macrofagele sînt producătoare de interferon, ci și alte tipuri de celule ca: celulele infectate viral sau limfocitele activate (de celule tumorale sau alogene), reglarea activității NK este multifactorială (fig. 22.28). Nu se cunoaște încă mecanismul prin care sînt generate noi celule NK. Se știe însă că dacă aceste celule sînt distruse prin iradiere sau cu ciclofosamidă, ele reapar după 5—7 zile. Se pare că reapariția se datorează recrutării lor dintr-o populație precursoră, radiorezistentă (Fc^-).

22.2.4.4.4.

Rolul celulelor NK în supravegherea imună

Din datele expuse anterior, bazate pe cercetările *in vitro*, rezultă că celulele NK pot să aibă un rol hotărîtor în apărarea anticanceroasă. Cercetările *in vivo* aduc atît argumente pro, cît și contra.

Argumentul *pro* esențial îl constituie incidența mică a cancerelor spontane la animalele timectomizate neonatal și la șoarecii nuzi (șoareci cu aplazie timică congenitală, lipsiți de păr, de unde numele de „nuzi“, golași). Aceste animale nu au limfocite T mature, deoarece sînt lipsite de timus; așadar nu pot să respingă grefele de țesuturi alogene. Conform teoriei supravegherii imune în forma ei clasică, ar fi de așteptat ca frecvența cancerului la animalele fără timus să fie mult mai mare, deoarece nu au imunitate celulară (nu au limfocite T). Totuși, ele nu fac tumori maligne mai frecvent decît animalele normale, deoarece dispun de un număr mare de celule NK.

Alte dovezi *pro* sînt aduse de dezvoltarea mai rapidă a tumorilor la animalele cu număr scăzut de celule NK și mai lentă la cei cu număr mare de celule NK. În plus, dacă se injectează celule tumorale marcate cu izotopi radioactivi la animale cu niveluri ridicate de NK s-a constatat dispariția rapidă, în cîteva ore, a izotopului. La animalele cu niveluri scăzute de NK, nu se distrug celulele tumorale și izotopul persistă mult timp.

Există însă și numeroase argumente *contra*. De exemplu, celulele NK, ineficiente în tumorile mari, sînt eficace numai dacă numărul celulelor maligne este foarte mic.

— Rezistența animalelor la leucemiile virotice (de exemplu indusă de virusul Moloney) sau la sarcoamele induse chimic, nu este influențată de numărul celulelor NK pe care le posedă.

— La animalele sau oamenii cu tumori maligne există de obicei o scădere secundară a activității NK, scădere care nu se datorează sechestrării acestor celule în tumori, deoarece tumorile sînt lipsite de celulele NK.

Pînă în prezent nu există dovezi indubitabile asupra supravegherii imune a tumorilor spontane sau induse (chimic, viral sau prin iradiere) de celulele NK. Se presupune că aceste celule au un rol important în stadiile foarte incipiente ale dezvoltării tumorilor, atunci cînd numărul celulelor maligne este mic. În aceste stadii, celulele NK ar constitui prima linie de apărare, capabilă să distrugă rapid celulele tumorale sensibile. Ulterior, pe măsura dezvoltării tumorii, vor interveni macrofagele, celulele K și limfocitele T citotoxice. Deocamdată, studierea celulelor NK este abia la început, cercetările viitoare vor demonstra dacă aceste supoziții se confirmă sau nu.

Se pare că celulele NK sînt membrii unei populații mai largi de celule citotoxice naturale (NC). Aceste celule au unele caractere speciale: sînt preexistente, dependente de factori genetici, nu au specificitate definită, nu au memorie imună, nu au restricție de MHC, sînt influențate de interferon și activitatea citotoxică este blocată de glucide simple. Celulele NC sînt constituite dintr-o populație eterogenă încă insuficient definită, din care fac parte celulele NK, precursorii lor și forma activată, promonocitele, macrofagele activate etc.

22.2.4.5.

Macrofagele

Monocitele sangvine și forma lor matură din țesuturi — macrofagele (fig. 22.29) — au un rol de primă importanță în apărarea antitumorală.

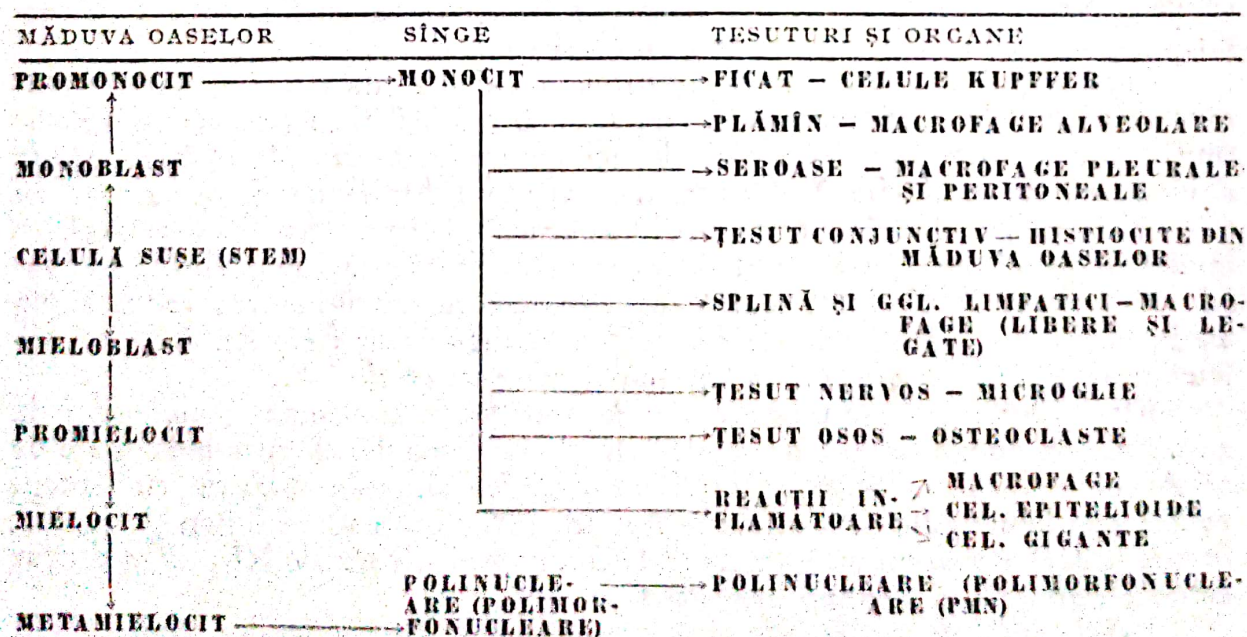


Fig. 22.29. — Originea și diferențierea celulelor fagocitante: macrofage / monocite și polimorfonucleare (Bach, 1976 și Simu, 1978, combinare).

Intervenția lor se realizează fie direct, prin activitatea citotoxică, fie indirect, prin aportul esențial în generarea și activarea altor tipuri de celule efectoare.

22.2.4.5.1.

Citotoxicitatea macrofagelor

Cercetările *in vitro* au demonstrat că macrofagele pot să distrugă celulele tumorale prin 3 mecanisme:

a) Prin citotoxicitate celulară dependentă de anticorpi (ADCC), într-un mod identic cu cel descris deja la celulele K. Macrofagele constituie componenta celulară, imunologic nespecifică, ce determină distrugerea celulelor maligne acoperite cu anticorpi specifici, datorită faptului că are receptori pentru porțiunea Fc a imunoglobulinei G (fig. 22.12, 22.21, 22.22.).

b) Când interacționează cu celulele tumorale, față de care sînt sensibilizate, limfocitele T eliberează o limfokină — factorul de înarmare specifică al macrofagelor (SMAF) —, factor care înzestrează macrofagele cu capacitatea de a distruge selectiv aceste celule tumorale. Și în acest caz specificitatea acțiunii citotoxice este dată de un factor extern, de SMAF și nu aparține macrofagelor (fig. 22.12, 22.21).

c) Limfocitele T eliberează în plus o altă limfokină diferită de SMAF și anume factorul de activare a macrofagelor (MAF), care provoacă apariția unor modificări morfologice și metabolice în macrofage, determinînd activarea acestora, macrofage active sau „furioase”. Activitatea citotoxică a acestor macrofage „furioase” nu are specificitate, manifestîndu-se în toate direcțiile: sînt distruse celule tumorale, celule cu antigene străine, crește pinocitoza, fagocitoza și distrugerea microbilor etc., fără nici o discriminare.

Modul în care se realizează citotoxicitatea este controversat și încă incomplet elucidat. Se pare că nu intervine capacitatea fagocitantă a macrofagelor, ci generarea și eliberarea de peroxid de hidrogen (H_2O_2), producerea de citotoxine sau injectarea lizozomilor în celulele tumorale.

Activitatea citotoxică a macrofagelor este dependentă de raporturile cantitative dintre numărul lor și numărul celulelor tumorale. Atunci cînd raportul este mare (40 de macrofage sau mai multe pentru o celulă tumorală) apare citotoxicitatea, dar cînd raportul este mic, cînd sînt prea puține macrofage, are loc chiar o proliferare a celulelor canceroase.

Activarea macrofagelor se poate obține cu interferon sau substanțe care induc secreția de interferon: substanțe polianionice ca: poli-I-poli-C, ARN dublu catenar, copolimerii de pyran, heparina sau endotoxinele bacteriene, complexe imune (cu IgE) etc. Calea principală de activare a macrofagelor o constituie însă MAF eliberat de limfocitul T. Se constituie astfel un circuit: antigen străin (celulă tumorală) $\rightarrow$ macrofag $\rightarrow$ limfocit T $\rightarrow$ macrofag $\rightarrow$ distrugerea celulei cu antigen străin. În acest circuit, limfokinele eliberate de limfocitul T determină atragerea macrofagelor către celulele tumorale (factorii chemotactici), menținerea lor la acest nivel (MIF, factorii de inhibiție a migrării și a răspîndirii macrofagelor), înarmarea lor speci-

fică (SMAF) și activarea lor (MAF). Acest ciclu prezintă însă numeroase alte bucle sau cicluri secundare de amplificare a reacției. Astfel, producerea de interferon de către limfocite determină activarea macrofagelor; de asemenea MIF și/sau MAF pot să inducă sinteza de interferon în macrofage, care la rândul lui activează alte macrofage și totodată activează celulele NK.

Nu se știe precis dacă mecanismele efectoare, demonstrate *in vitro* funcționează și *in vivo*. Există date care atestă rolul major al macrofagelor în apărarea antitumorală. Astfel, Alexander și colab. (1974—1976) au arătat că proporția de macrofage din interiorul tumorilor este invers proporțională cu dezvoltarea și metastazarea tumorilor. Tumorile cu număr mic de macrofage, cresc mai rapid, se înregistrează o incidență crescută a metastazării și sînt mai ușor de transplantați la alte animale. Acest fenomen a fost verificat pe un mare număr de tumori experimentale și pare să fie valabil și la oameni.

În plus, Fidler și colab. (1974—1978) au constatat că dacă se recoltează macrofagele peritoneale de la șobolani cu melanom, se activează *in vitro* și se reinjectează la același animal, se reduce semnificativ incidența metastazelor pulmonare și se poate obține chiar dispariția metastazelor deja constituite. Activarea prelungită a macrofagelor murine *in vivo* (prin infecții cu *T. gondii*) conferă animalelor rezistență crescută la tumorile spontane, virale sau transplantate.

În unele experiențe s-a demonstrat că prin activarea macrofagelor cu BCG sau copolimeri de piran pot fi realizate regresii ale tumorilor primare, datorită creșterii numărului de macrofage din tumori și a activității lor citotoxice. În toate experiențele efectuate pînă în prezent, activitatea antitumorală citotoxică este apanajul exclusiv al macrofagelor activate, cele neactivate fiind ineficiente. În plus, faptul că macrofagele activate își manifestă acțiunea distructivă cu predilecție asupra celulelor tumorale și nu asupra celor normale, sugerează posibilitatea „recunoașterii” celulelor maligne.

Recent, Old și colab. (1975—1981) au constatat că macrofagele șoarecilor imunizați cu BCG sau *C. parvum*, cărora li s-a administrat lipopolizaharid (LPS) sau endotoxină, secretă un factor care determină necroza tumorilor. Acest factor, denumit de autori TNF („Tumour Necrosis Factor”) apare în serul animalelor; el provoacă hemoragii și necroze în tumori, ducînd, în final, la regresia tumorală completă.

O dată cu creșterea tumorii însă, este suprimată activarea macrofagelor. Inițial această supresie este specifică, incluzînd numai lipsa de reactivitate față de tumoare și nu afectează reacția față de o a doua tumoare neînrudită. Ulterior, în fazele mai avansate, poate să apară o lipsă generală de reactivitate, nu are loc activarea și acumularea macrofagelor în focarele inflamatorii, chiar dacă acestea sînt situate la distanță de tumoare. Lipsa de activare a macrofagelor se poate datora fie limfocitelor T supresoare, fie incapacității limfocitelor de a produce factorii de activare: SMAF sau MAF prin sensibilizare cu antigenele tumorale. Lipsa de reactivitate a macrofagelor *in vivo* este deci o consecință a dereglării funcționale a limfocitelor T.

Rolul macrofagelor în generarea celulelor reglatoare și efectoare

Macrofagele au un rol esențial în mai multe etape ale răspunsului imun: în prelucrarea și prezentarea antigenului, în generarea limfocitelor amplificatoare (T_H) și citotoxice (T_C), în activarea celulelor NK și limfocitelor B. Intervenția lor în aceste procese este fie directă, fie prin favorizarea interacțiunilor celulare, fie prin producerea și eliberarea unor factori solubili denumiți monokine (tabelul 22.IX).

a) Macrofagele fagocitează sau pinocitează antigenul și îl prelucurează în interiorul lizozomilor (fagozomii). Aici antigenul este degradat chimic și sînt menținuți determinanții antigenici care ulterior vor fi expuși pe suprafața membranei celulare*. Antigenul astfel prelucrat și prezentat este de cîteva mii de ori mai imunogen decît antigenul inițial (fig. 22.19). Suprafața macrofagelor este o zonă de întîlnire a limfocitelor T și B cu antigenul, dar totodată și o zonă care favorizează nu numai interrelațiile celulare dintre macrofag și limfocitele B și T, ci și dintre cele 2 tipuri de limfocite (cooperare T/B).

b) Apariția limfocitelor amplificatoare (T_H) pare să fie condiționată de prezentarea antigenului de către macrofag, probabil în asociere cu moleculele de Ia. Datele experimentale au demonstrat că legarea directă a antigenului solubil de limfocitele T determină apariția limfocitelor T supresoare, în timp ce legarea limfocitului T de antigenul prezentat de macrofage duce la generarea limfocitelor T_H . În plus, macrofagele activate eliberează un factor de stimulare și generare a limfocitelor T_H denumit factorul înrudit genetic sau prescurtat GRF („Genetically Related Factor“). Această monokină prezintă restricție de histocompatibilitate, acționînd numai asupra limfocitelor autoloage (sau singene).

c) Cercetările din ultimii ani au evidențiat importanța macrofagelor în generarea limfocitelor T citotoxice. Procesul are loc în urma eliberării de către macrofagele activate a unei monokine denumită Interleukina-1 (IL-1)**. IL-1 are o acțiune mitogenă asupra limfocitelor T și totodată de inducere a producerii unei limfokine denumită Interleukina-2. La rîndul ei, interleukina-2 (IL-2) determină activarea limfocitelor T și generarea limfocitelor T citotoxice.

d) Tot prin IL-1 macrofagele stimulează activarea și diferențierea limfocitelor B în plasmocite, amplificînd deci producția de anticorpi.

e) Prin intermediul altei monokine, TDF („Thymocyte Differentiating Factor“), macrofagele induc diferențierea timocitelor în limfocite T imunologic competente, capabile să răspundă la stimularea antigenică.

f) Rolul macrofagelor în activarea celulelor NK a fost deja descris (vezi 22.2.4.4.3.).

g) Prin producerea unor componente ale complementului (C1, C4, C2, C3, factor B, D etc.) macrofagele intervin în citoliza realizată prin anticorpi și complement (tabelul 22.IX).

* Determinanții antigenici mai apar în literatură sub denumirea de epitop și reprezintă cea mai mică unitate structurală recunoscută de un anticorp.

** Interleukina-1 este noua denumire care cuprinde factorii denumiți anterior MP („Mitogenic protein“), HP-1 („Helper-Peak-1“), TRF-III („T cell Replacing Factor III“), BAF („B cell Activating Factor“), BDF („B cell Differentiation Factor“).

b) Macrofagele amplifică reacția inflamatorie locală și generală prin eliberarea de factori chemotactici pentru neutrofile, lipide bioactive, substanțe pirogene etc. (tabelul 22.IX).

TABELUL 22.IX

PRODUSELE SECRETORII ALE MACROFAGELOR
(DAVIES ȘI BONNEY 1979 ȘI NATHAN ȘI COLAB., 1980)

(1) Enzime hidrolitice

- Lizozim
- Proteaze neutre: activatorul plasminogenului, collagenaza, elastaza, convertaza angiotensinei
- Hidrolaze acide: proteaze, lipaze, dezoxi- și ribonucleaze, fosfataze, glicozidaze, sulfataze
- Arginaza

(2) Componente ale complementului

- C₁, C₄, C₂, C₃, C₅
- Factor B, D, properdina
- Inactivatorul lui C3b, beta-III

(3) Inhibitori ai enzimelor, ai plasminze și alfa-2-Macroglobulinei

(4) Proteine transportoare: transferina, transcobalamina II, fibronectina

(5) Substanțe pirogene endogene

(6) Substanțe puternic oxidante: superoxid, peroxid de hidrogen, radicali hidroxilici

(7) Lipide bioactive

- Metaboliți ai acidului arahidonic — prostaglandine: E₂, I₂, 6-ceto-F1-alfa, F2-alf
- Tromboxan, leucotriene, substanța slow-reacting din anafilaxie
- Factori de activare a trombocitelor

(8) Factori chemotactici pentru neutrofile

(9) Factori de reglare a sintezei proteice a:

- Hepatocitelor: haptoglobina și amiloidul serie A
- Celulelor sinoviale: collagenaza

(10) Factori ce promovează mitoză:

- Limfocitelor (factori de activare a limfocitelor): GRF, IL-1, TDF
- Precursorilor mielocitelor, eritrocitelor (factori de stimulare a coloniilor)
- Fibroblastelor
- Celulelor microvaselor — angiogeneza

(11) Factori de inhibiție a mitozelor:

- Limfocitelor
- Celulelor tumorale
- Replicării virusurilor — interferon
- Bacteriilor (*Listeria monocytogenes*).

Din datele expuse rezultă că pentru generarea unei reacții imune eficiente este necesară cooperarea dintre macrofage și limfocite, precum și integritatea funcțională a ambelor tipuri de celule.

Efectul stimulator al macrofagelor asupra limfocitelor depinde însă, cel puțin *in vitro*, de raporturile cantitative dintre aceste celule. Astfel, dacă proporția macrofagelor este de 50%, ele stimulează limfocitele T și B, amplifică răspunsul imun la antigene, mitogene sau la celulele alogene (în culturi limfocitare mixte). Dacă proporția macrofagelor este mai mare, se obțin rezultate

inverse: la 50% macrofage se observă o inhibiție de 99% a răspunsurilor imune, atât a limfocitelor T, cât și B (Wing și Remington, 1980). Această capacitate imunosupresivă este mult mai marcată în cazul macrofagelor active. De exemplu, macrofagele provenite de la șoarecii infectați cu *T. gondii* sau tratați cu *C. parvum* (imunostimulator utilizat în imunoterapia cancerului), copolimeri de piran sau celule de sarcom Moloney sînt mult mai imunosupresoare *in vitro*, comparativ cu macrofagele neactivate. Mecanismele prin care are loc suprimarea reacțiilor imune sînt incomplet elucidate. Sînt incriminate mai multe substanțe produse de macrofage, din care prostaglandinele din seria E par să fie cele mai active (Goodwin și colab., 1977—1980). Nu poate fi exclusă însă intervenția timidinei, arginazei, oxidazelor, poliaminelor, interferonului sau a produșilor de scindare a complementului (Wing și Remington, 1980).

22.3.

Mecanismele de „scăpare” a tumorilor de controlul imunității

La prima vedere este greu de înțeles de ce reacțiile imune, care reușesc totdeauna să distrugă grefele străine alogene, lasă uneori să se dezvolte tumorile, chiar dacă acestea sînt antigenic diferite de celulele normale ale țesutului de origine. Pentru a se explica acest fenomen paradoxal, s-au făcut numeroase cercetări, în special în ultimii 15 ani. În urma acestor cercetări, au fost descriși numeroși factori care pot să altereze relațiile tumoră-gazdă, permițînd celulelor canceroase să scape de sub controlul supravegherii imunologice. Unii factori sînt generați de comportamentul organismului gazdă, ca de exemplu: imunodeficiențele, toleranța imunologică, facilitarea imunologică, iar alții de unele proprietăți particulare ale tumorilor: imunogenicitatea deficitară, imunorezistența, „furișarea” sau capacitatea proliferativă mare etc. Deoarece bibliografia din acest domeniu este extrem de bogată, vom trece în revistă doar succint factorii invocați cel mai frecvent în explicarea mecanismelor de „scăpare” a tumorilor, chiar dacă în ultimul timp unele sînt puse sub semnul întrebării sau chiar contestate.

22.3.1.

Imuno-deficiența gazdei

Conform teoriei supravegherii imunologice, reacțiile imunologice care în mod normal sînt capabile să apere organismul împotriva cancerului, devin insuficiente în cazul unor imunodeficiențe, deci nu mai pot face față procesului patologic, lăsînd să se dezvolte tumorile. În favoarea acestei ipoteze sînt aduse argumente experimentale și clinice.

22.3.1.1.

Argumente experimentale

Există lucrări care demonstrează clar că *oncogeneza virală* este stimulată de starea de deficiență imună a animalelor, ca: timectomia (în special neonatală), imuno-deficiențele congenitale (șoarecii „nuzi” sau atimici congenital) sau

de tratamentele imuno-supresive: iradiere, ser antilinfocitar. Acest fenomen este valabil în special pentru virusurile oncogene cu ADN (polyoma, SV40, adenovirusurile), dar și pentru cele cu ARN (vezi oncogeneza virală). Rezultă deci că imunitatea mediată celular are un rol esențial în apărarea față de cancerul viral. Un argument în plus îl constituie faptul că, la animalele imunosupresate, se poate preveni apariția tumorilor induse viral, cu ajutorul grefelor singene de timus, cu celule splenice sau cu implante tisulare de timus neonatal în camere milipore (care nu lasă să treacă celulele).

În cazul *carcinogenezei chimice* însă, datele din literatură sînt neconcludente sau chiar divergente. Unii autori sînt de părere că imunodepresia determină o creștere a incidenței tumorilor induse chimic, în schimb alții susțin că nu influențează incidența, ci scurtează numai perioada de latență (timpul care se scurge între administrarea carcinogenului și apariția tumorii). În plus, stimularea nespecifică a imunității (de exemplu cu BCG) de asemenea nu modifică frecvența tumorilor, dar prelungește mult perioada de latență. Este greu de apreciat rolul imuno-supresiei în cancerul indus chimic, cu atît mai mult cu cît însăși carcinogenii chimici s-au dovedit că posedă proprietăți imunodepresoare. În orice caz, merită să fie menționat faptul că majoritatea agenților carcinogeni sînt și agenți imuno-depresivi. Acest fapt este bine cunoscut în cazul razelor Röntgen și a fost dovedit în ultimii ani și la unii carcinogeni chimici și virali.

Un subiect foarte controversat este rolul depresiei imune în *cancerul spontan*. De exemplu, Burstein și Law (1971) au constatat o creștere a tumorilor mamare spontane la șoarecii timectomizați, dar Sanford și colab. (1973), din contră, o scădere. Se părea că problema va fi rezolvată de experiențele pe șoarecii „nuzi”, dar divergențele se mențin încă. Aceste animale sînt extrem de susceptibile la orice agent infecțios, datorită defectelor imune grave, așa încît trăiesc foarte puțin (1—2 luni). Faptul că șoarecii nuzi nu fac tumori spontane mai frecvent decît șoarecii normali, nu constituie un argument valabil pentru partizanii teoriei supravegherii imunologice, deoarece timpul scurt de supraviețuire nu ar permite dezvoltarea unor tumori spontane (care apar de obicei la animale mai în vîrstă). Totuși, Prehn în 1975 și Rygaard în 1974 au reușit să mențină în viață, în condiții de sterilitate, șoareci nuzi și nu au constatat o incidență crescută a tumorilor spontane obișnuite la șoarecii normali, cu excepția tumorilor limfo-histiocitare, care de fapt sînt mult mai frecvente. Se pare, deci, că imunodepresia nu influențează incidența cancerelor spontane în general, ci numai pe cea a limfoamelor maligne. Chiar apărătorii cei mai înfocați ai supravegherii imune trebuie să cedeze în fața argumentelor aduse de școala daneză (Rygaard și colab., 1976) pe un număr foarte mare de șoareci nuzi — 15 700 — cu timp de viață total de 67 200 de luni, din care 2 800 au trăit pînă la 2 ani, un interval de timp suficient de mare pentru a se putea trage concluzii valabile.

22.3.1.2.

Argumente clinice

S-a sugerat că frecvența mare a tumorilor în copilărie s-ar datora imaturității imunologice a acestei vîrste (în special din perioada neonatală), iar numărul mare al cancerelor la bătrîni ar fi o consecință a declinului imunologic progresiv. Totuși, există date epidemiologice care demonstrează că după 80 de

ani incidența generală a cancerului scade (cu excepția cancerelor cutanate), ceea ce contravine ipotezei menționate.

Un alt argument în favoarea rolului imuno-depresiei este frecvența mare a tumorilor maligne la persoanele cu imuno-deficiențe primare (congenitale), secundare (după unele afecțiuni) sau terapeutice (tratamente imuno-supresive la bolnavi cu afecțiuni autoimune și mai ales la cei cu transplante de organe).

Colectivul condus de R. A. Good a demonstrat că incidența cancerelor la persoanele cu unele deficiențe imune congenitale este de 10 000 de ori mai mare decât la populația martoră de aceeași vîrstă. Această incidență se ridică în ataxia teleangiectazică la 10%, în sindromul Wiskott-Aldrich și în deficiențele variabile comune sau de IgM la peste 8%, iar în agammaglobulinemia de tip Bruton la 6%. Și la acești bolnavi se remarcă o predominanță netă a leucemiilor și limfoamelor maligne. Restul tumorilor, caracteristice pentru vîrsta copilăriei (neuro-blastoame, retino-blastoame, sarcoame tumorale ale sistemului nervos central etc.), prezintă incidențe comparabile cu cele ale populației martore, de aceeași vîrstă.

Frecvența cancerelor în imuno-deficiențele secundare poate să fie normală (de exemplu la leproși) sau crescută (în sarcoidoză) numai în privința limfoamelor și a cancerelor pulmonare. Nu se știe precis dacă incidența crescută a celui de-al doilea cancer din boala Hodgkin se datorează imuno-deficienței, specifice pentru această boală, sau tratamentelor (radio- și chimioterapie), care în afară de faptul că sînt imuno-depresoare, sînt și cancerigene.

Un argument puternic pentru rolul competenței imune a fost adus de Penn și colab. (1974—1976), care au arătat că bolnavii cu transplante de organe tratați cu medicamente imuno-supresoare sau cu ser antilinfocitar, fac de aproximativ 35 de ori mai des cancer decât restul populației. Și în aceste cazuri malignitățile sînt predominant de tip limfo-reticular și, mult mai rar, cancere ale pielii, buzelor sau gîtului. Există însă și contraargumente care susțin originea virală a acestor tipuri de cancere (Schwartz, 1975; Matas și colab., 1975). Experimental s-a demonstrat că o stimulare antigenică cronică, persistentă, cu herpesvirusuri, într-un organism imuno-supresat, determină apariția unor limfoame și cancere epiteliale. Este bine cunoscut faptul că majoritatea persoanelor la care s-au făcut transplante de organe fac infecții cu herpesvirusuri (în special cu virusul citomegalic).

În ultimii ani, G. Klein încearcă să explice divergențele din literatură prin argumente genetice. Acest autor consideră că recunoașterea neoantigenelor tumorale depinde de existența unor gene Ir adecvate (gene ale răspunsului imun), așa cum se fac, în general, recunoașterea și răspunsul imun față de antigenele străine. În cazul în care un animal nu posedă genele Ir pentru o anumită tumoare, sistemul său imun nu va recunoaște ca străine celulele tumorale și, în consecință, nu va reacționa împotriva lor, indiferent dacă această tumoare este sau nu antigenică. Un argument puternic în favoarea teoriei îl constituie alelele *s* ale locusului Rgv-1, bine cunoscutele gene Ir-1, care conferă șoarecilor rezistență la leucemia indusă de virusul Gross. Șoarecii care au alelele adecvate sînt rezistenți la leucemie, chiar dacă sînt infectați cu virusul leucemiei, în timp ce șoarecii care nu le au, dezvoltă leucemie cu o frecvență de 100%. Genele Rgv-1 sînt localizate în regiunea I, din sistemul major de histo-compatibilitate H-2 al șoarecilor și se comportă ca adevărate gene Ir.

Există însă și gene Ir care nu sînt legate de MHC. Probabil că numărul real al genelor Ir este foarte mare, dar pînă în prezent sînt cunoscute numai cîteva, cele localizate în regiunea I. Dacă șoarecii proveniți dintr-o linie pură, lipsită de genele Ir-1, sînt încrucișați cu șoarecii dintr-o altă linie, care posedă aceste gene, descendenții lor hibridi sînt mult mai rezistenți la leucemie. Această „rezistență” a hibrizilor, care a fost demonstrată experimental și în cazul altor tipuri de tumori maligne, se datorează achiziționării unor gene Ir adecvate de la părintele care posedă astfel de gene. Cel puțin în cazul tumorilor induse viral, se pare că un rol esențial în rezistența organismului la cancer îl joacă genele Ir. În lumina acestor date genetice se poate presupune că imuno-depresia poate să determine o creștere a incidenței tumorilor la animalele care au genele Ir adecvate, dar nu joacă un rol esențial în cazul animalelor care nu posedă aceste gene. Deci, trebuie să se facă o distincție între dezvoltarea tumorilor care are loc prin lipsa recunoașterii imunologice și cea care apare ca o consecință a prăbușirii sau a eșecului reacțiilor imune.

22.3.2.

Toleranța imunologică

S-a încercat să se explice dezvoltarea tumorilor prin presupunerea că acestea ar induce o stare de toleranță imunologică. Inițial, acest termen a fost utilizat de Medawar pentru a descrie lipsa răspunsului imun față de celule străine în cazul în care aceste celule au fost inoculate prenatal sau imediat după naștere. S-a considerat că, datorită imaturității imune din aceste perioade ale vieții, celulele străine nu sînt recunoscute ca străine și din acest motiv, sistemul imun le „tolerează”. Unii autori afirmă că la baza apariției unor tumori virale ar sta toleranța imunologică. La șoareci, leucemiile virale sînt date de infecțiile cu virusul Gross, transmise genetic sau intrauterin, iar carcinoamele mamare se realizează prin transmiterea genetică sau neonatală a virusului Bittner, în special prin lapte. La oameni, în zonele cu incidență mare a limfomului Burkitt, infecția cu virusul Epstein-Barr se face pre- sau neonatal. Ulterior, Mitchinson și Halle-Pannenko au constatat că toleranța imunologică se poate instala nu numai perinatal, ci și în viața adultă, dacă antigenele sînt administrate fie într-o doză prea mică — „toleranță de zonă joasă”, fie foarte mare — „toleranță de zonă înaltă”, în timp ce dozele medii induc fenomenele de imunizare. S-a presupus că, deoarece inițial cancerul debutează printr-un număr foarte mic de celule, deci cantitatea de neoantigene este foarte mică, apare o toleranță de „zonă joasă”. Invers, în cazul unor tumori foarte voluminoase, cantitățile excesive de antigene eliberate de tumoare pot să inducă o stare de toleranță de „zonă înaltă” (vezi „Ipoteza blocajului central” — 22.3.3.4. și „Celulele supresoare” — 22.3.4.).

În ultimul timp, ipoteza toleranței imune este pusă la îndoială sau chiar negată, deoarece pînă în prezent nici un studiu nu a putut demonstra valoarea acestei ipoteze. În plus, prezența toleranței imunologice implică lipsa oricărui răspuns imun; or, în majoritatea cazurilor, s-a constatat *in vitro* prezența reacțiilor imune antitumorale. Chiar dacă considerăm că reacțiile *in vitro* nu reflectă fidel situația din organism, prezența „imunității concomitente” este un argument puternic împotriva toleranței. Încă din 1965, Southam a arătat că, dacă se grefează un număr mic de celule tumorale auto-loage subcutanat la bolnavii cu cancer avansate, celulele grefate sînt res-

pinse prompt. În majoritatea cazurilor, acești bolnavi au deci o reacție imună eficientă, capabilă să determine respingerea a 1—10 milioane de celule canceroase ale propriei tumori, în pofida faptului că tumoarea primară crește progresiv. Prezența reacțiilor imune antitumorale eficiente, concomitent cu dezvoltarea nestingherită a tumorii, ar exclude ipoteza toleranței imunologice. Experiențele lui Southam sugerează că unele cancere umane sînt imunogene și pot fi respinse de gazdă. Fenomenul imunității concomitente ar putea explica faptul că, deși din tumoarea primară se desprinde un număr mare de celule canceroase care circulă în întregul organism, totuși numai un număr foarte mic de celule dau, de fapt, metastaze la distanță.

22.3.3.

Facilitarea imunologică — blocajul

Simplul fapt că există o reacție imună antitumorală nu înseamnă neapărat că această reacție are totdeauna un efect distructiv asupra celulelor canceroase. De fapt, ea poate să realizeze un efect complet opus și anume de potențare sau chiar de stimulare a dezvoltării tumorii. Încă în 1958 Kaliss a demonstrat că grefele de tumori alogene, care în mod normal nu prind datorită barierelor de histocompatibilitate, pot să prindă cu succes dacă în prealabil animalele sînt tratate cu seruri antitumorale. Ulterior, s-a constatat că și în cazul tumorilor singene serurile anti-TATA favorizează creșterea tumorală. În plus, încercările de vaccinare cu antigene tumorale solubile provoacă în foarte multe cazuri o stimulare a creșterii și a metastazării tumorilor (Chiricuță și colab., 1967). Acest fenomen imunologic a fost denumit „facilitare imunologică” (în engleză „immunologic enhancement”).

Soții Hellström au demonstrat (în 1970—1972) că facilitarea imunologică are un echivalent *in vitro* și anume fenomenul de „blocare”. Ei au arătat că distrugerea celulelor tumorale de către limfocitele imune autoloage este blocată de serul autolog (fig. 22.30). Dacă celulele tumorale sînt cultivate *in vitro*, fiecare celulă se multiplică, dînd naștere unei clone sau „colonii de celule”. În cazul în care cultivarea acestor celule maligne are loc în prezența limfocitelor imune, provenite de la același individ (limfocite imune autoloage), se observă o scădere a numărului de colonii de celule tumorale, datorită distrugerii celulelor tumorale de către limfocitele imune — testul de inhibiție a coloniilor sau testul Hellström (fig. 22.30 B).

Dacă, concomitent cu limfocitele, se adaugă și serul provenit de la bolnavul cu tumoare, nu se mai observă aceeași scădere a numărului de colonii (fig. 22.30 C). În serul bolnavilor cu cancer există deci factori care „blochează” acțiunea citotoxică a limfocitelor imune — „factori blocanți”. Legătura strînsă dintre fenomenul de „facilitare imunologică” și de „blocaj” este dovedită concludent de experiențele care au demonstrat: a) serurile care sînt blocante *in vitro*, au activitate de facilitare imunologică și b) serurile facilitante *in vivo* au acțiune blocantă. Factorii blocanți sînt prezenți în special în serurile animalelor sau oamenilor care au tumori voluminoase sau în creștere. Soții Hellström au constatat că în cazul în care tumorile regresează sau dacă se îndepărtează chirurgical tumoarea, în serul acestor bolnavi apar factori care se opun activității factorilor blocanți, le anihilează efectul, adică factorii deblocanți.

Natura factorilor blocați din serul bolnavilor cu cancer a constituit obiectul a numeroase studii experimentale și de laborator. Inițial, s-a considerat că factorii blocați sînt anticorpi antitumorali (în special de tip IgG) deoarece:

— serurile cu activitate facilitantă, *in vivo*, se leagă specific de celulele tumorale (demonstrat de Möller în 1964, prin imunofluorescență);

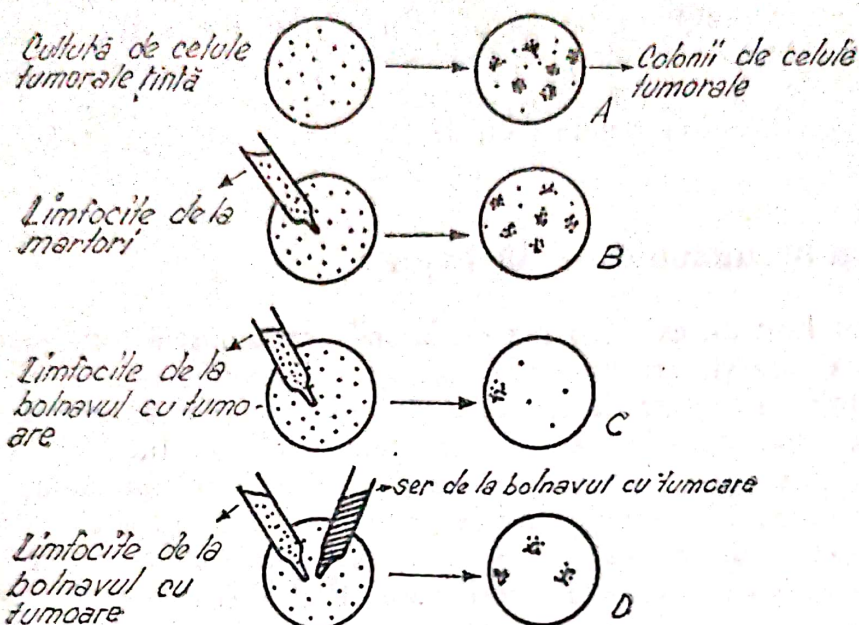


Fig. 22.30. — Testul Hellström pentru demonstrarea factorilor serici blocați. (A) Cultivarea *in vitro* a celulelor tumorale determină formarea de colonii realizate prin multiplicarea acestor celule. (B) Adăugarea limfocitelor de la martori sănătoși; nu se obține scăderea numărului de colonii. (C) Adăugarea limfocitelor bolnavului cu tumoare — scăderea marcată a numărului de colonii (inhibiția coloniilor). (D) Adăugarea concomitentă a limfocitelor și serului de la bolnavul cu tumoare — blocarea fenomenului de inhibiție a coloniilor. Numărul coloniilor este mai mare decât în (C) (Mathé și Cattani, 1976, modificat).

— imunoglobulinele disociate *in vitro* de pe suprafața celulelor maligne au o acțiune de facilitare imunologică *in vivo* (Ran și Witz, 1972).

Incontestabil, anticorpii iau parte la fenomenele de blocare și de facilitare imunologică, dar unele observații experimentale nu pot fi explicate exclusiv prin acțiunea blocantă a anticorpilor. Așa cum am mai menționat, la scurt timp după îndepărtarea chirurgicală a tumorilor serurile animalelor nu mai sînt facilitante, iar *in vitro* ele nu mai au activitate blocantă, ci, din contră, deblocantă, deși nivelul anticorpilor antitumorali se menține încă ridicat. Deci, în afară de anticorpi trebuie să intervină și alt factor legat de prezența tumorii, probabil antigenele tumorale. S-a sugerat că efectul blocant este realizat de complexe imune solubile, adică de complexe formate între antigenele tumorale și anticorpii antitumorali (Ag-Ac). Valabilitatea acestei ipoteze a fost confirmată experimental:

— Sjögren și Hellström (1971) au demonstrat că factorii blocați din serul animalelor cu cancer pot să fie disociați chimic în două componente distincte: (a) una cu greutate moleculară mare (peste 100 000 daltoni), probabil anticorpii și (b) alta cu greutate moleculară mică (între 10 000—100 000 daltoni), probabil antigenul tumoral. Testate separat, nici una dintre cele

două componente nu are acțiune blocantă, dar dacă sînt în prealabil amestecate activitatea de blocare devine manifestă.

— Dovada cea mai elocventă a fost adusă de Baldwin și colab. (1973), care au obținut *in vitro* factorii blocați prin amestecarea serului antitumoral cu antigenele tumorii, antigene obținute tot *in vitro* prin solubilizarea lor enzimatică (cu papaină).

Ulterior s-a constatat că dacă limfocitele imune sînt preincubate cu antigene tumorale, adică dacă înainte de a se testa activitatea lor citotoxică sînt tratate cu antigene tumorale o anumită durată de timp, ele își pierd capacitatea de a distruge celulele tumorale (Bonavida, 1976). Deci, antigenele tumorale solubile sînt capabile singure să blocheze efectul citotoxic al limfocitelor imune.

Din toate aceste date rezultă că tumorile maligne pot să scape de controlul imunității chiar dacă sistemul imun nu este deprimat, datorită unor factori blocați reprezentați de complexe imune, antigenele tumorale sau anticorpii antitumorali. Pentru a se explica mecanismul prin care are loc această „scăpare”, au fost propuse 4 ipoteze, devenite clasice. În cadrul acestor ipoteze accentul este pus fie pe anticorpi sau pe componenta anticorp din complexe imune (ipoteza blocajului aferent sau eferent), fie pe antigenele tumorale sau componenta antigen din complexe imune (ipoteza inhibiției sau a blocajului central). Fiecare ipoteză încearcă să explice anumite particularități ale blocajului, particularități observate în diversele sisteme experimentale (fig. 22.31). Nu este exclus ca în scăparea tumorilor de sub controlul imun, *in vivo*, să intervină mai multe mecanisme de blocaj.

22.3.3.1.

Ipoteza blocajului aferent

Ipoteza blocajului aferent (fig. 22.31 A) încearcă să explice facilitarea prinderii tumorilor alogene realizată prin administrarea de seruri antitumorale. Conform acestei ipoteze, rolul principal îl joacă anticorpii antitumorali sau componenta anticorp din complexe imune solubile (de obicei dacă acestea sînt în exces de anticorpi). Astfel, anticorpii blochează ramura aferentă, de recunoaștere a arcului imun, prin faptul că, datorită legării lor de antigenele tumorale, are loc o „mascare” a celulelor tumorale. Celulele tumorale astfel „mascate” nu mai pot fi recunoscute ca străine de limfocitele T și, deci, nu mai are loc un răspuns imun. Studii recente au demonstrat că, prin administrarea de anticorpi antiantigene minore de histocompatibilitate se poate prelungi supraviețuirea alogrefelor de țesuturi normale. Fenomenul de facilitare prin administrarea de seruri imune, nu este deci limitat exclusiv la grefele tumorale, ci este un fenomen general. De altfel, existența unei similitudini între comportamentul antigenelor tumorale și cel al antigenelor minore de histocompatibilitate, este sugerată și de alte date imunologice.

22.3.3.2.

Ipoteza blocajului eferent

Ipoteza blocajului eferent — potrivit acestei ipoteze, anticorpii sau componenta anticorp din complexul imun acționează asupra ramurii eferente, efectoare, a răspunsului imun (fig. 22.31 B). Prin mascarea determinantilor

antigenici de pe suprafața celulelor tumorale anticorpilor sustrag aceste celule acțiunii efectoare a limfocitelor citotoxice. Celulele tumorale astfel mascate derutează limfocitele efectoare, nu mai sînt recunoscute ca străine și, prin urmare, nu mai sînt distruse. Această ipoteză explică cel mai plauzibil efectul blocant obținut *in vitro*. Deoarece testările se realizează în absența complementului, unii autori consideră că blocajul eferent este în realitate un fenomen care are loc numai *in vitro*. Alți autori consideră că serurile blocante pot să conțină anticorpi facilitanți, anticorpi care sînt incapabili să lege sau să activeze complementul, deci anticorpi incapabili să realizeze o citoliză umorală mediată de complement. Pe de altă parte, prin legarea lor de receptorii Fc ai celulelor efectoare, complexe imune pot să blocheze activitatea citotoxică dependentă de anticorpi (ADCC) a celulelor K, macrofagelor și polimorfonuclearelor.

22.3.3.3.

Ipoteza inhibiției

Această ipoteză acordă rolul principal antigenelor tumorale sau componente antigen din complexe imune. Baldwin și Robins (1976) afirmă că antigenele tumorale solubile se leagă de receptorii lor specifici de pe membrana celulelor efectoare. Prin acoperirea acestor receptori, limfocitele efectoare „orbesc”, nu mai pot să vadă antigenele tumorale de pe celule și din această cauză nu-și mai pot exercita funcția citotoxică. Antigenele solubile, exfoliate continuu de pe suprafața celulelor tumorale, acționează ca o ceață groasă, ca un „fum” care împiedică limfocitele T citotoxice să „vadă” celulele canceroase țintă (fig. 22.31 C). Această „inhibiție” a funcției efectoare a limfocitelor ar putea să constituie cauza unor rezultate experimentale și anume a facilitării creșterii tumorilor prin administrarea unor cantități mici de antigene tumorale solubile înainte de grefarea celulelor canceroase. Tot prin inhibiție s-ar putea explica de ce limfocitele provenite de la animalele cu tumori voluminoase sînt hiporeactive sau chiar lipsite de activitate citotoxică, antitumorală *in vitro*. Limfocitele sînt, de fapt, sensibilizate la antigenele corespunzătoare dar nu-și exercită funcția citotoxică. Această afirmație este susținută de datele experimentale, care arată că dacă aceste limfocite nereactive sînt trecute la animale singene iradiate total, după un timp își redobîndesc întreaga capacitate de citotoxicitate specifică, la testările *in vitro*. Deci, în serul animalelor cu tumori voluminoase există factori care blochează funcția citotoxică a limfocitelor T efectoare, fie direct, potrivit ipotezei inhibiției eferente, fie indirect, blocajul central.

22.3.3.4.

Ipoteza blocajului central

Ipoteza blocajului central explică facilitarea imunologică printr-un blocaj al arcului imun, realizat în organele limfatice: ganglioni, splină, timus. Au fost descrise mai multe mecanisme prin care se poate face această blocare, dar în ultimul timp s-a ajuns la concluzia că toate aceste mecanisme acționează de fapt prin generarea sau stimularea celulelor supresoare. Aceste celule supresoare sînt în majoritatea cazurilor de natură limfocitară T, limfocite T supresoare, dar există unele indicii asupra rolului supresor al lim-

focitelor B și macrofagelor (vezi secțiunea 22.3.4.). În ultimii ani s-au acumulat dovezi experimentale care demonstrează posibilitatea blocării reacțiilor imune, umorale și celulare, prin antigene tumorale solubile, complexe imune și anticorpi antitumorali, indirect prin celulele supresoare.

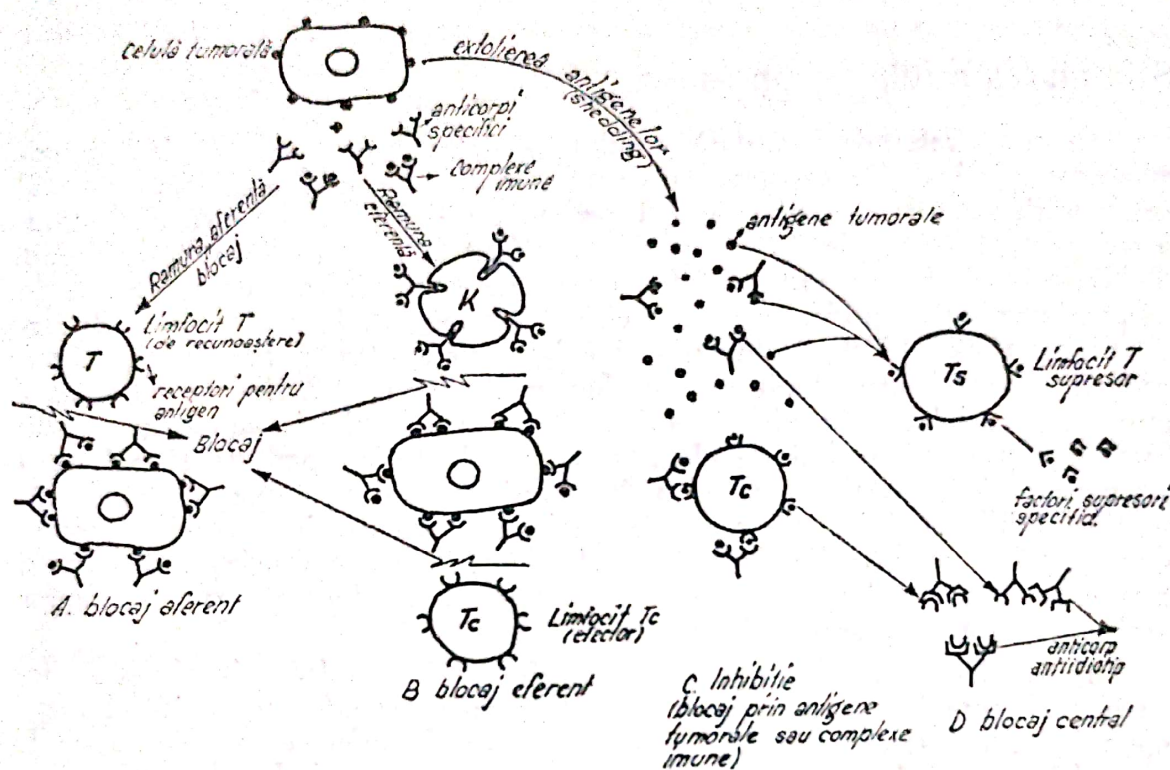


Fig. 22.31. — Mecanismele ipotetice prin care factorii blocați blochează citotoxicitatea. (A) Ipoteza blocajului aferent, (B) Ipoteza blocajului eferent, (C) Ipoteza inhibiției, (D) Ipoteza blocajului central.

(A) Antigenele tumorale solubile pot să inducă o stare de toleranță de „zonă înaltă” datorită faptului că se eliberează foarte ușor de pe suprafața celulelor tumorale (în engleză „shedding” — exfoliere). Se pare că toleranța imună, atât de „zonă joasă”, cât și de „zonă înaltă”, se realizează prin generarea limfocitelor T supresoare — Ts (Zembala și Asherson, 1973). Se presupune că în special antigenele onco-fetale solubile determină apariția limfocitelor Ts, blocând astfel reacția imună în mod similar cu blocarea reacțiilor de respingere din cursul gravidității. Blocarea reacției imune a mamei contra alogrefei, reprezentată de făt, determină menținerea sarcinii.

(B) În mod asemănător, simpla variație cantitativă a complexelor imune poate să inducă răspunsuri imune complete opuse: cantitățile mici (în special în exces de antigen) provoacă o amplificare a răspunsului imun, în timp ce cantitățile mari o inhibiție a acestuia, datorită generării de limfocite Ts.

(C) În plus, prezența unor niveluri ridicate de anticorpi antitumorali ar putea să inhibe de asemenea răspunsul imun prin diferite mecanisme: inhibiție prin feedback, prin inducerea formării unor anticorpi antiidiotip (care pot să inhibe atât imunitatea umorală, cât și cea celulară) sau prin stimularea celulelor Ts specifice.

Deși încă nu se știe care din cele 4 mecanisme de blocare expuse anterior sînt de fapt responsabile *in vivo* de „scăparea” celulelor tumorale de sub controlul imunității, n-ar fi exclus ca aceste mecanisme să acționeze concomitent sau succesiv în diferitele etape ale progresiei tumorale.

22.3.4.

Stimularea celulelor supresoare

Atenția crescîndă acordată rolului celulelor supresoare în dezvoltarea tumorilor derivă din constatarea că amplitudinea răspunsului imun normal depinde de activitatea limfocitelor T reglatoare: T ajutătoare (T_H) și T supresoare (T_S). Limfocitele T_S intervin în diferitele faze ale răspunsului imun, ele acționează asupra ramurii aferente și eferente, direct sau indirect (prin factori supresori), specific sau nespecific (Gershon, 1977; Snell, 1978; Broder și colab., 1978—1979; Waldmann și colab., 1978—1980). Ele reglează imunitatea umorală prin limitarea producției de imunoglobuline și modulează imunitatea celulară. În ultimii ani s-a sugerat că celulele supresoare și/sau factorii supresori produși de ele pot să stea la baza lipsei de eficacitate a răspunsului imun antitumoral și a facilitării creșterii tumorale, datorită faptului că inhibă activitatea citotoxică specifică a celulelor T citotoxice, precum și activitatea citotoxică spontană a celulelor NK natural ucigașe (Savary și Latzova, 1978). Rolul limfocitelor T supresoare în blocarea reacțiilor imune antitumorale este sugerat și de alte date experimentale:

a) S-a constatat că limfocitele T_S sînt mai abundente în timus (timocitele rezistente la cortizon) și în special în splină (Feldmann, 1976). Experimental s-a constatat că dacă se recoltează celule splenice sau timice de la animalele cu un tip de tumoare (de exemplu cu sarcom indus de metil-colantren) și se injectează la animalele imunizate față de același tip de tumoare, animalele imune își pierd capacitatea de a respinge tumoarea. În plus, dacă timocitele sau celulele splenice recoltate de la animalele cu sarcom sînt injectate intravenos concomitent cu celulele sarcomatoase, creșterea și metastazarea tumorii este facilitată. Deci, animalele cu tumori posedă celule supresoare care blochează activitatea antitumorală în mod specific (aceste celule supresoare nu influențează reacția imună față de alte tipuri de tumori) (Fujimoto, Greene, Schon, 1975—1977). Celulele supresoare sînt de natură limfocitară T, deoarece, dacă celulele splenice sînt pretratate *in vitro* cu ser antilimfocite T (anti-Thy-1), înainte de injectarea lor intravenoasă, acțiunea stimulatorie asupra creșterii tumorilor dispare. Aceste experiențe, precum și cele făcute pe alte sisteme experimentale, cu carcinom pulmonar Lewis (la șoareci), cu sarcoame induse viral și altele sugerează că animalele cu tumori au celule supresoare. Aceste celule sînt responsabile de abolirea răspunsului antitumoral, precum și de stimularea creșterii tumorilor *in vivo*. Ele sînt de natură limfocitară T, limfocitele T_S (Fujimoto și colab., 1975—1977; Umjel și Trainin, 1974; Treves și colab., 1974; Reinisch și colab., 1977; Levy și colab., 1976).

Cum apar aceste limfocite T_S ? Experiențele lui Fisher și Kripke (1977) și ale lui Spellman și Daynes (1977) au adus unele clarificări în privința modului în care sînt generate aceste celule supresoare în cazul carcinogenezei indusă prin iradiere cu raze ultraviolete (UV). La șoarecii iradiati cronic cu UV apar cancere cutanate, foarte antigenice și puternic imunogene. Dacă sînt grefate la animale singene, chiar dacă animalele nu sînt preimunizate, aceste

cancere sînt respinse. Transplantarea se poate face numai după imunosupresie. În mod surprinzător, s-a constatat că iradierea cu UV în doze mici, subcarcinogene, determină o modificare a comportamentului animalelor normale, care nu mai sînt capabile să respingă transplantele de cancere induse cu UV. Expunerea animalelor numai o singură dată, timp de 2 ore, la UV, determină apariția de limfocite T_s în timus și splină, limfocite care suprimă reacția imună normală anticancere cutanată induse prin UV. Activitatea supresoare a acestor celule este specifică, deoarece nu influențează reacția imună față de alte tipuri de tumori. Aceste limfocite T_s , dacă sînt recoltate de la animalele iradiate cu doze subcarcinogene și sînt injectate intravenos, concomitent cu celulele canceroase, la animale singene normale, determină o creștere a metastazării (Fidler și Kripke, 1980). Declanșarea apariției de celule supresoare poate fi deci realizată de: iradierea cu UV sau în alte sisteme, de virusurile oncogene (v. Friend), de administrarea adjuvantului Freund complet sau de alți agenți imuno-terapeutici uzuali: BCG, *Corynebacterium parvum* (Kumar și colab., 1976; Reinisch și colab., 1977; Kirchner și colab., 1975; Klimpel și Henney, 1978).

b) Unele date experimentale, aparent paradoxale, din imunologia tumorii ar putea fi explicate prin existența limfocitelor T supresoare (Broder și colab., 1978—1979). S-a constatat că se poate realiza depleția limfocitelor T_s și, consecutiv, o stimulare a răspunsului imun normal, prin: timectomia animalelor adulte, administrarea serului antilimfocitar (ALS) sau antitimocitar (anti-Thy-1 la șoareci), prin iradiere, tratament cu hidroclorizol sau cu unele citostatice (ciclofosamidă, 6-mercaptopurină). Unii autori afirmă că acțiunea distructivă a acestor manopere asupra limfocitelor T_s sau a precursorilor celulelor T_s , ar sta la baza efectului lor antitumoral. În acest fel s-ar putea explica acțiunea paradoxală de inhibiție a dezvoltării tumorilor, realizată prin aceste tratamente binecunoscute ca imuno-depresoare.

— Dacă se timectomizează șoarecii înainte de inocularea carcinomului pulmonar Lewis, se constată o scădere marcată a metastazelor pulmonare (Treves și colab., 1974). De asemenea, administrarea repetată de ser antilimfocitar după transplantarea unor tumori, determină uneori o scădere marcată a dezvoltării acestor tumori.

— În unele cazuri, dacă după inocularea tumorilor se administrează hidroclorizol, se obține o scădere a creșterii grefelor tumorale. S-a constatat că hidroclorizolul elimină precursorii T_s (Schechter și Feldmann, 1977; Gershon, 1975—1977).

— Uneori, iradierea totală a șoarecilor, efectuată înainte de transplantarea tumorilor, poate să determine o încetinire semnificativă a creșterii transplantelor și o prelungire a supraviețuirii animalelor, probabil tot datorită eliminării limfocitelor T_s (Rotter și Trainin, 1975; Hellström și Hellström, 1978). Se pare că limfocitele T_s sînt cele mai radiosensibile limfocite (Fine-man și colab., 1979).

Aceste rezultate experimentale, precum și cele expuse în paragraful anterior, par să sugereze importanța limfocitelor T_s în blocarea reacției imune antitumorale. În aceste experiențe au fost utilizate populații eterogene de limfocite splenice și timice. Deoarece aceste populații conțineau nu numai limfocite T_s , ci și celelalte subpopulații, T-helper inițitoare, T cu memorie, T citotoxice, T efectoare în reacția de hipersensibilitate întârziată și limfocite B, efectul obținut se poate datora oricăreia din subpopulațiile amintite. Deci,

rezultatele obținute se pot interpreta ca fiind un argument pentru activitatea limfocitelor T_s , dar și ca un argument în favoarea teoriei imunostimulării cancerului (vezi secțiunea 22.5). O dovadă mai peremptorie s-ar putea obține prin folosirea unor preparate celulare purificate, care să conțină numai limfocite T_s . Astfel de preparate sînt însă foarte greu de obținut. Totuși, Greene și colab. (1977) au reușit să demonstreze suficient de convingător rolul limfocitelor T_s .

c) La șoareci, limfocitele T_s posedă markeri specifici, adică au pe suprafața membranei lor celulare antigene codificate de subregiunea I—J din complexul major de histo-compatibilitate H—2. Aceste antigene le deosebesc de restul subpopulațiilor de limfocite T și în special de limfocitele T citotoxice, care au, în rest, același fenotip ($Thy-1^+$, $Ly\ 2.3^+$) (Okumura și colab., 1976; Murphy și colab., 1976). Anticorpul anti aceste antigene, codificate de subregiunea I—J (sau antigene Ia—4), datorită faptului că diminuează funcția limfocitelor T_s , determină o stimulare a răspunsului imun. Greene și colab. (1977) au demonstrat că dacă se administrează astfel de anticorpi la animalele cu tumori maligne are loc o inhibiție puternică a creșterii tumorilor. Deci, anticorpul antilimfocite T_s diminuează activitatea supresoare a acestor celule, realizînd o stimulare a reacției imune antitumorale, ceea ce are drept consecință inhibiția dezvoltării tumorilor. Aceste cercetări deschid noi perspective în imunoterapia antitumorală. Din păcate pînă în prezent nu s-a găsit la oameni nici o deosebire între configurația antigenică a limfocitelor T_s și T citotoxice (ambele au antigenul T_5 și T_8 sau Leu 2 a, b).

d) La oameni, prezența limfocitelor T_s a fost demonstrată de Yu și colab. (1977) în cazul osteo-sarcoamelor. Activitatea supresoare a acestor celule a fost evidențiată prin faptul că suprimă activitatea citotoxică specifică a limfocitelor T_c *in vitro*.

Pe lîngă limfocitele T_s specifice, care inhibă în mod specific reacția imună față de un anumit antigen atît direct, cît și prin producerea de factori supresori specifici, există și limfocite T_s nespecifice, care determină o inhibare a reacțiilor imune în general, deci fără specificitate pentru antigen. Ca și în cazul celulelor T_s specifice, acțiunea supresoare a limfocitelor T_s nespecifice se manifestă fie direct, fie prin producerea și eliberarea de factori supresori nespecfici (Rich și Rich, 1976). Unii autori consideră că prezența acestor limfocite T_s nespecifice sau a factorilor eliberați de ele, ar putea să explice depri-marea marcată a imunității (în special a celei de tip celular) la bolnavii cu diferite forme de cancer (Broder și colab., 1978, 1979). Foarte mulți autori au arătat că la bolnavii cu cancer, mai ales în fazele avansate ale bolii, are loc o negativare a testelor cutanate de hipersensibilitate întîrziată (la PPD, Candida, Streptokinază/streptodornază, DNCB etc.), o scădere a capacității de transformare blastică a limfocitelor la mitogeni (PHA, PWM, Con A) sau la antigene, o scădere a capacității de răspuns în reacțiile mixte limfocitare etc. (Chiricuță și colab., 1979; Simu, 1978; Wanebo, 1979) (vezi capitolul 24 „Metode de explorare a imunității la bolnavii canceroși”). Această imunodepresie, instalată de obicei ca urmare a dezvoltării tumorilor, ar putea fi provocată de acțiunea supresoare nespecifică a T_s . Uneori, rezecția chirurgicală a tumorilor, iradierea și chimioterapia determină o restaurare a capacității imune la acești bolnavi. Această restaurare ar putea să apară nu numai datorită acțiunii directe antitumorale a procedeeleor terapeutice, ci și indirect, prin suprimarea limfocitelor T supresoare. S-a constatat că ablația tumorilor determină

dispariția activității supresoare; aceeași acțiune o au iradierea, chimioterapia (ciclofosfamida și 6-mercaptapurina) și cortizonul în anumite condiții experimentale (Broder și colab., 1978, 1979).

Activitatea de supresie a răspunsului imun poate fi determinată și de monocite (sau macrofage) sau limfocite B (Cerczynski, 1974; Kirchner și colab., 1975; Broder și colab., 1978, 1979; Waldmann și colab., 1980). Efectul supresor al macrofagelor se realizează, se pare, prin intermediul prostaglandinelor. Au fost descrise acțiuni supresoare și ale altor factori solubili: alfa-fetoproteina, chalonele, factorul timic seric (în anumite condiții), prostaglandinele și chiar interferonul (în anumite condiții) (Krakauer și Glough, 1980). De asemenea, în unele cazuri procedeele de stimulare nespecifică a imunității pot să inducă o stimulare a activității celulelor supresoare, deci efecte exact contrare celor scontate în imunoterapia nespecifică a cancerului; așa de exemplu, extractele microbiene, BCG, *Corynebacterium parvum* (Broder și colab., 1978).

22.3.5.

Dezvoltarea tumorilor în zone privilegiate, izolate imunologic

Unii autori sînt de părere că dezvoltarea tumorilor în anumite zone izolate imunologic ar constitui cauza scăpării lor de sub controlul imun (Howard, 1977). Se știe că grefele alogene pot să prindă, sînt tolerate, dacă sînt plasate în anumite zone — de exemplu în creier, cornee — chiar dacă animalele primitoare nu sînt condiționate (adică nu au fost deprimare imunologic, prin iradiere, ser antilinfocitar sau imunodepresoare). În plus, se pot realiza cu succes grefe de piele alogene dacă acestea sînt „pediculate alimfatice”, adică dacă sînt implantate în așa fel încît să fie lipsite complet de drenajul limfatic aferent, ca irigarea lor să se facă numai prin sînge. Grefele pediculate alimfatice supraviețuiesc mult mai mult decît grefele obișnuite. S-a presupus că și în cazul unor tumori ale sistemului nervos central sau chiar al unor cancere epiteliale sau ale țesuturilor parenchimatoase, dezvoltarea celulelor tumorale trece neobservată de sistemul imun, deoarece are loc în zonele în care aportul limfocitar este foarte mic. Numai cîteva limfocite care traversează pereții capilarelor sangvine ajung la celulele maligne și atîta timp cît membranele bazale sînt intacte, deci nu eliberează material antigenic, prezența cancerului nu este observată. Deci, nu are loc o reacție imună antitumorală (Howard, 1977). Un argument în favoarea acestei ipoteze este adus de experiențele lui Andrews (1974), care a constatat că deși neoplasmele cutanate induse cu metilcolantren nu sînt atacate de sistemul imun, dacă aceste tumori incipiente sînt pur și simplu scoase (ca la o grefă de piele) și regrefate în același loc, tumorile sînt respinse. Deci, sistemul imun al animalului nu este nici deprimat de metilcolantren, nici tolerant la antigenele TSTA tumorale. Concluzia ar fi că tumoarea nu a fost „văzută” de sistemul imun, a trecut neobservată. Abia după ce s-a produs o reacție inflamatorie locală, datorită traumatismului și leziunilor provocate de actul chirurgical, ca urmare a afluenței crescute de celule inflamatorii la locul leziunii (limfocite, monocite), se îndeplinesc condițiile necesare pentru ca celulele maligne să fie „observate” și să se inițieze astfel un răspuns imun eficient.

Această ipoteză nu poate totuși să explice satisfăcător cum are loc scăparea de sub supravegherea imună a limfoamelor și leucemiilor, deoarece este

greu de presupus că celulele leucemice nu sînt „observate” de limfocitele normale din imediata lor apropiere.

Alte ipoteze pun accentul pe rolul unor factori care țin de tumoare în scăparea de sub controlul imun. Am menționat deja rolul antigenelor tumorale solubile. Au mai fost incriminate: lipsa sau slaba antigenicitate a tumorilor, imunomodularea, imunorezistența și „furișarea” celulelor tumorale.

22.3.6.

Lipsa de antigenicitate sau antigenicitatea slabă a tumorilor

Scăparea de sub supravegherea imună prin lipsa de antigenicitate a tumorilor a fost invocată în special în cancerele spontane sau induse cu doze mici de carcinogene chimice. Totuși, marea majoritate a tumorilor experimentale posedă antigene străine, tumorale, uneori foarte puternice și cu toate acestea se dezvoltă (de exemplu cancerele virale, induse chimic). În ultimul timp se preferă termenul de lipsă de imunogenitate a antigenelor tumorale, deci lipsa capacității de a induce un răspuns imun la anumite animale, datorită lipsei de recunoaștere a acestor neoantigene. Lipsa de recunoaștere s-ar putea datora patrimoniului genetic — lipsa unor gene Ir adecvate. În plus, carcinogenii chimici sînt în general produse care nu sînt întîlnite curent, în mod natural, și în consecință organismele animale, nu și-au putut dezvolta și selecta de-a lungul evoluției mecanismele imune necesare pentru protecția față de aceste cancere.

Experimental s-a demonstrat că reacțiile imune efectoare de citoliză depind de densitatea antigenelor străine de pe suprafața celulelor țintă. Dacă densitatea acestor antigene este mare, are loc citoliza; dacă este mică, nu are loc distrugerea celulelor. Se pare că densitatea neoantigenelor tumorale este mică datorită exfolierii lor continue și din acest motiv activitatea citolică a celulelor efectoare este mult scăzută.

Unii autori consideră că slaba antigenicitate a tumorilor spontane prelungește timpul necesar pentru edificarea unei reacții imune și totodată scade amplitudinea acestei reacții. Din acest motiv, în momentul în care sînt generate celulele citotoxice, numărul celulelor tumorale este prea mare, depășind capacitatea funcțională a celulelor imune efectoare. Astfel, *capacitatea proliferativă* a tumorilor ar constitui încă un mecanism posibil de scăpare de sub controlul imun.

22.3.7.

Imuno-rezistența și imuno-selecția

Unii autori susțin că tumorile imunogene sînt distruse pe loc în cazul în care organismul are o capacitate imună normală. Faptul că majoritatea tumorilor spontane sînt slab imunogene, s-ar datora unei selecții imune, în sensul că mijloacele de apărare imunologice reușesc să distrugă celulele puternic antigenice, dar sînt mai puțin eficace asupra celor slab antigenice. Deoarece tumorile, chiar dacă sînt monoclonale, prezintă o *eterogenicitate antigenică*, cu timpul proliferază exclusiv celulele imuno-rezistente. Fenomenul ar fi similar cu cel întîlnit în roentgenterapie, dezvoltarea selectivă a celulelor

radiorezistente în urma tratamentului prin iradiere. Această explicație este contestată de cercetările care demonstrează că celulele maligne produse *in vitro*, deci în afara oricărei influențe a sistemului imun, sînt adesea slab imunogene (Prehn, 1970). Deci, antigenicitatea slabă a unor tumori, ca și imunorezistența este un caracter intrinsec și nu unul rezultat printr-o imunoselecție.

S-a emis și ipoteza că sub presiunea exercitată de reacțiile imune ale gazdei, celulele maligne își pierd antigenele tumorale originale de pe membrană. Dacă aceste celule, lipsite de antigene tumorale, sînt trecute la un animal singen, neimunizat, se constată reapariția antigenelor originale. De asemenea, dacă celulele lipsite de antigene tumorale se cultivă *in vitro*, după o diviziune a celulelor antigenul este din nou prezent. Acest fenomen a fost constatat inițial de Old și colab. (1968) la antigenul TL al leucemiei murine și a fost denumit „modulație antigenică” (vezi antigenele leucemiei murine). Ulterior, modulația antigenică a fost găsită și în alte malignități induse viral (antigenele din leucemia Gross, limfoamele cu virus Moloney, din cancerul mamar murin, eritroleucemia cu virus Friend, limfom Burkitt, tumorile induse cu virus SV40) sau neviral (antigenele asociate melanomului uman) (Cohen, 1980). Fenomenul a putut fi reprodus și *in vitro* prin includerea în mediul culturilor de celule maligne a unor cantități mici de anticorpi (Shearer și Parker, 1975). După 9 luni de cultivare, celulele și-au pierdut antigenul inițial.

Faptul că aceste celule au prezentat un nou antigen de membrană, diferit de primul, sugerează că reacțiile imune pot să determine o modificare a antigenicității tumorilor. Deoarece celulele își redobîndesc antigenicitatea inițială dacă sînt tratate cu o enzimă, neuraminidaza, care scindează acidul sialic, reiese că modificarea antigenică se realizează prin modificarea componentei glucidice din aceste antigene.

22.3.8.

„Furișarea” celulelor tumorale („Sneaking through”)

Acest termen a fost introdus de Old pentru a explica observația făcută în experiențele de transplantare a tumorilor animale: uneori transplantele de mărime mijlocie sînt respinse, în timp ce transplantele foarte mici sau foarte mari, cresc. Dacă creșterea transplantelor mari este ușor de explicat prin depășirea capacității de reacție imună a organismului, precum și prin efectul blocant realizat de eliberarea unor cantități mari de antigene tumorale, această explicație nu este valabilă în cazul transplantelor foarte mici. De ce un număr mic de celule maligne poate să genereze o tumoare, în timp ce un număr mai mare nu? Old și colab. sînt de părere că atunci cînd sînt foarte puține, celulele tumorale reușesc să se strecoare neobservate de sistemul imun, putînd astfel prolifera nestingherite. Atunci cînd numărul lor este suficient de mare pentru declanșarea unui răspuns imun, tumoarea a depășit deja pragul capacității de reacție a sistemului imunologic. Un fenomen similar ar putea avea loc în cazul tumorilor mici, *in situ*. Ca un argument în favoarea acestei ipoteze sînt invocate experiențele care demonstrează că dacă în perioada de latență a tumorii se administrează celule tumorale iradiate, transplantul tumoral este respins. Celulele iradiate nu pot să prolifereze, dar pot să realizeze o „reîntărire imunologică”, adică reușesc să alerteze sistemul imun și astfel este prevenită „furișarea” celulelor tumorale.

Alte mecanisme de scăpare

În literatură sînt descrise și alte mecanisme prin care tumorile pot să scape de sub controlul imun, ca: nerecunoașterea antigenelor tumorale datorită faptului că sînt acoperite cu sialomucine, defectul în mecanismul de amplificare a reacției imune, lipsa reacției inflamatorii, depresia funcției imunitare datorită unor factori produși chiar de celulele maligne (de exemplu factorul de inhibiție a chemotaxiei, substanțe similare MIF sau factori supresori, prostaglandine, alfa-fetoproteină etc.), lipsa celui de al doilea semnal necesar inducerii proliferării și diferențierii celulelor imunocompetente, producerea de către limfocitele activate a unor factori facilitanți (factor de angiogeneză, factori de creștere a tumorii, factori mitogeni).

În concluzie, există numeroase modalități prin care tumorile pot să scape de sub controlul imunologic. În anumite sisteme experimentale unele mecanisme sînt mai evidente, altele mai puțin. Se poate presupune că aceste mecanisme pot să acționeze conjugat, sau că acțiunea fiecăruia este predominantă într-o anumită fază a evoluției, deci a progresiei tumorale. Este greu de conceput că eterogenitatea extrem de mare a tumorilor poate să genereze doar o singură modalitate de depășire a controlului imun. Din toate datele expuse rezultă că pînă în prezent singura lege cu adevărat generală este că în cancer nu există reguli generale.

În ultimii ani, unii cercetători au arătat că și teoria supravegherii imunologice, cel puțin sub forma ei clasică, nu trebuie privită ca o dogmă, ca o lege, ci doar ca o ipoteză științifică. În această calitate, această teorie a dat naștere la cercetări care stau la baza cunoștințelor actuale de imunologie tumorală. Dacă unele date obținute ca urmare a acestor cercetări nu sînt în concordanță cu teoria, acest fapt nu este în detrimentul științei, deoarece a generat și probabil va genera și pe viitor alte teorii, care vor explica mai satisfăcător toate fațetele încă necunoscute ale acestui fenomen extrem de complex, răspunsul imun. Pînă în prezent există două teorii care încearcă să explice unele rezultate experimentale care nu se pot încadra în supravegherea imună: teoria imunoreglării (Schwartz, 1972, 1975) și teoria imunostimulării (Prehn, 1971, 1972, 1976, 1977).

Teoria imuno-reglării defectuoase în patogeneza malignităților limfo-histiocitare

Potrivit acestei teorii, frecvența crescută a tumorilor limfo-reticulare (limfo-histiocitare) în organisme cu imuno-depresie nu este o consecință a eșecului supravegherii imune, ci rezultatul unei stimulări antigenice cronice realizată într-un organism în care reglarea imună este defectuoasă.

Frecvența extrem de ridicată a limfoamelor și a sarcoamelor histiocitare (reticulare) la bolnavii imuno-supresați (după alogrefe), la cei cu imuno-deficiențe congenitale și dobîndite (AIDS) sau la șoarecii nuzi, nu poate fi explicată prin prisma teoriei supravegherii imunologice. Conform acestei teorii, ar trebui să apară o incidență crescută a tuturor formelor de cancer, nu numai a celor limfo-histiocitare. De ce femeile cu grefe renale, tratate cu imuno-depre-

soare, dezvoltă de 700 de ori mai frecvent limfoame maligne decât populația martor, dar nu fac mai frecvent cancer de sân, malignitatea cu cea mai mare incidență la acest sex? De ce 90% din bolnavii cu imuno-deficiențe primare nu fac formele obișnuite de cancer în pofida imuno-depresiei evidente? Este clar că deficiența imună constituie un factor de risc incontestabil pentru malignitățile limfo-histiocitare, dar de ce exclusiv pentru ele?

Se știe că și în alte sisteme, nu numai în sistemul imun, o suprasolicitare prelungită, acompaniată de lipsa inhibiției prin produs final (feedback negativ) poate să genereze neoplazii. De exemplu, este bine cunoscut faptul că unele tumori endocrine apar ca urmare a stimulării cronice realizată în lipsa mecanismelor inhibitoare de feedback (Furth, 1975).

Încă în 1949, Biskind și Biskind au obținut tumori ovariene la șobolănițe prin ovariectomie urmată de grefarea propriului ovar în splină. Datorită faptului că hormonii ovarului greșit intrasplenic sînt distruși în ficat, nu se mai poate realiza inhibiția secreției de gonadotrofine hipofizare. Stimularea continuă a ovarului prin gonadotrofine determină apariția neoplaziei ovariene. Un mecanism similar ar putea sta la baza apariției limfoamelor maligne. O stimulare antigenică prelungită, care determină o proliferare a celulelor imuno-competente, ar putea da naștere limfoamelor în cazul în care această reacție proliferativă nu este limitată de mecanismele reglatoare, de exemplu datorită lipsei sau funcției deficitare a limfocitelor T supresoare.

Există numeroase date clinice, experimentale și histo-patologice care sprijină această ipoteză. Vom expune succint o parte din ele.

22.4.1.

Argumente histo-patologice

Anatomo-patologii au semnalat de mult similitudinea dintre hiperplaziile limfatice întâlnite în limfadenitele infecțioase (virale, bacteriene, parazitare) și unele limfoame maligne, similitudini care fac uneori ca diagnosticul diferențial să fie extrem de dificil. De exemplu, limfomul Brill-Symmers sau limfomul nodular este foarte greu de diferențiat de limfadenitele virale (din mononucleoza infecțioasă sau adenoviroze) sau de altă natură (sifilis, toxoplasmoză). Celulele Reed-Sternberg, caracteristice pentru limfomul Hodgkin, pot să fie întâlnite ocazional în ganglionii bolnavilor cu viroze (mononucleoză, herpes Zoster sau în limfadenite postvaccinale). Au fost descrise cazuri la care s-a observat dinamic, în decurs de câțiva ani, o transformare a modificărilor histo-patologice de la limfadenită (specifică sau nespecifică) la leucemie sau limfom malign (Simu, 1978).

Atît aspectul histologic, cît și cel imunologic al limfoamelor apărute la bolnavii cu imuno-deficiențe sau după tratamente imuno-supresoare de întreținere a grefelor de organe, sînt similare cu cele ale „sarcoamelor imunoblastice”. Însăși această denumire — „imunoblastic” — dată de Lukes și Collins, definește aspectul imuno-reactiv al celulelor maligne. Caracterele acestor celule par să sugereze că ele sînt rezultatul unei reacții imune proliferative necontrolate, determinată de o stimulare antigenică. Au fost descrise unele cazuri la care s-a observat transformarea limfadenitelor angioimunoblastice în limfoame imunoblastice.

22.4.2.

Argumente clinice și experimentale

Posibilitatea apariției limfoamelor în urma unei infecții cronice, persistente, a fost semnalată încă în 1955—1958 de Rubin Popa și colab., la bolnavii cu septicemii stafilococice cu evoluție lentă. Experimental, s-a constatat că dacă se induce la șoareci infecții cronice cu stafilococ în urma unui tratament insuficient cu antibiotice, apar hiperplazii limfo-histiocitare foarte asemănătoare cu limfoamele (Bedivan, R. Popa, 1960). Tot experimental, administrarea repetată și prelungită a unor vaccinuri microbiene sau a altor antigene străine (serumalbumină bovină, antigen polizaharidic) a dus la apariția unor tumori limfoide sau plasmocitare (Metcalf, 1961; Moraru și Sulică, 1975).

Frecvența crescută a limfoamelor la bolnavii cu boli autoimune, constituie un alt argument în favoarea ipotezei imuno-reglării. Berceanu afirmă că stimularea antigenică cronică, autoîntreținută, realizată într-un organism în care mecanismele de reglare sînt alterate — așa cum este cazul afecțiunilor autoimune — generează hiperplazii limfo-histiocitare similare limfoamelor maligne, denumite de autor „limfoproliferări de graniță” sau, potrivit denumirii dată de alți autori, „paralimfoame” (Berceanu, 1967—1981). Cu timpul, aceste procese autoimune prelungite pot să „escaladeze” în procese neoplazice (Miller și Osoba, 1967). Experimental s-a constatat că șoarecii care fac boli autoimune (linia NZB), fac foarte frecvent limfoame maligne. Gleichmann și Gleichmann susțin că în patogeniza ambelor afecțiuni (limfoame maligne și bolile autoimune) poate fi incriminată aceeași reacție de grefă-contra-receptor, prescurtat GvH („Graft-versus-Host”).

22.4.3.

Mecanismele probabile prin care se produc limfoamele și leucemiile

În explicarea mecanismului de apariție a limfoamelor la bolnavii imunosupresați cu grefe de organe, s-a sugerat că un rol important îl au virusurile.

22.4.3.1.

Infecțiile cu herpesvirusuri

Deoarece marea majoritate a bolnavilor cu transplante de organe sau cu imunodeficiențe cîștigate ca AIDS („Acquired Immuno Deficiency Syndrome”) au infecții cu herpesvirusuri, s-a sugerat că aceste virusuri ar putea provoca în condițiile unei deprimări marcate a reactivității imune apariția limfoamelor maligne și a cancerelor de piele, buze și cervicale. Se știe că unul din membrii familiei herpesvirusurilor — virusul Epstein-Barr — este candidatul nr. 1 în etiologia limfoamelor maligne și a carcinoamelor, în special în condițiile unei imunodepresii.

22.4.3.2.

Infecțiile cu oncornavirusuri

Atît clinic, cît și experimental, s-a constatat că există o legătură strînsă între apariția limfoamelor și prezența alogrefei. *In vivo*, în cursul reacțiilor

de respingere a grefei, s-a observat apariția unor oncornavirusuri de tip C. Originea lor endogenă a fost demonstrată *in vitro*. În cursul reacțiilor limfocitare mixte — dintre limfocitele donatorului și receptorului — apar virusuri ARN de tip C. Aceste virusuri au o origine endogenă (deoarece înainte de cultivarea limfocitelor nu erau prezente); ale apar la 4—7 zile după cocultivarea celor două tipuri de limfocite. În afara acțiunii leucemizante directe a acestor oncornavirusuri, se poate presupune că pot să acționeze și indirect. Neoantigenele virale realizează o stimulare antigenică cronică, care generează un răspuns imun proliferativ nelimitat, în condițiile unei imuno-reglări deficitare realizată de tratamentele imuno-supresoare (cortizon, ser antilimfocitar și alte medicamente imuno-supresoare).

22.4.3.3.

Dereglarea la T_H și/sau T_S

Datele recente de imunologie fundamentală aduc argumente care par să confirme teoria imuno-reglării. De exemplu la oameni, majoritatea proliferărilor limfatice maligne sînt de natură limfocitară B (tabelul 22.X). Deoarece în reglarea imună a funcției acestor limfocite pot să intervină mai multe mecanisme, între care un rol major îl au limfocitele T_H și T_S , dereglarea se poate datora unei deficiențe la niveluri diferite;

— alterarea funcțională a limfocitelor T_H (inductoare sau helper). Așa cum am mai arătat, pentru a se realiza funcția specifică a limfocitelor B — producția de anticorpi — sînt necesare două semnale: unul furnizat de interacțiunea cu antigenul, iar celălalt de interacțiunea cu limfocitul T_H sau cu factorul inductor (helper) produs de T_H (vezi secțiunea 22.2.2.1.1.). Dacă limfocitele B primesc numai primul semnal (antigenul), ele proliferază, dar nu se pot diferenția în plasmocite și, în consecință, nu pot produce anticorpi. În ultimii ani, Fu și colab. (1978) au constatat că la unii bolnavi cu leucemie limfatică cronică, la care există o hipoproducție de imunoglobuline, survine o alterare funcțională a limfocitelor T_H . Limfocitele T_H ale acestor bolnavi sînt incapabile să inducă *in vitro* transformarea limfocitelor B în plasmocite (și implicit secreția de imunoglobuline), nici în cazul limfocitelor B ale bolnavului cu leucemie limfatică cronică și nici a limfocitelor B normale. Invers, dacă se incubează limfocitele B leucemice cu limfocite T_H normale, are loc diferențierea primelor în plasmocite și consecutiv are loc secreția de imunoglobuline.

TABELUL 22.X

NATURA CELULELOR PROLIFERATE MALIGN ÎN LEUCEMIILE ȘI LIMFOAMELE UMANE
(COSSMAN ȘI BERARD, 1980)

LIMFOCITARĂ B

Limfoame limfatice bine diferențiate
Leucemie limfatică cronică (98% din cazuri)
Macroglobulinemia Waldenström
Boala lanțurilor grele
Limfoame limfatice cu diferențiere intermediară
Limfoamele nodulare (foliculare)
Limfomul Burkitt
Limfoamele cu celule mari („histiocitare”) (aproximativ 60% din cazuri)
Leucemia cu celule păroase (majoritatea cazurilor)

LIMFOCITARĂ T

Leucemia limfatică cronică (2% din cazuri)
 Limfomul limfoblastic
 Leucemia limfoblastică acută (25% din cazuri)
 Sindromul Sézary — micosis fungoides
 Limfoamele cu celule mari („histiocitare“) (5–15% din cazuri)

HISTIOCITARĂ (adevărată)

Histiocitoza malignă
 Limfoame cu celule mari („histiocitare“) (aproximativ 5% din cazuri)

— Deficiența funcțională poate fi la limfocitele T_s sau la producerea de factori supresori. Cele două laturi ale acestei deficiențe sînt: producerea de autoanticorpi (manifestările autoimune) și proliferarea necontrolată a celulelor limfatice.

— Incapacitatea limfocitelor B de a putea recepționa semnalele reglatoare provenite de la limfocitele T_H și/sau T_s , datorită alterării funcționale a receptorilor pentru aceste semnale (demonstrată la unii bolnavi cu leucemie limfatică cronică).

Deși rezultatul final al acestor deficiențe funcționale pare să fie identic — proliferarea necontrolată a limfocitelor B — datorită patogenezei diferite, abordarea terapeutică va trebui să fie diferențiată. Astfel, dacă în cazul unui defect al limfocitelor T_s se poate presupune că o terapie substitutivă cu T_s singene sau cu factori supresori ar putea duce la vindecare, în cazul unei alterări a receptorilor limfocitelor B, pentru factorii supresori, aceeași terapie substitutivă ar fi fără nici un efect.

22.4.3.4.

Mecanismul prin care survin anomaliiile
 în cooperarea dintre limfocitele T și B (reacția GvH)

Bazîndu-se pe o vastă bibliografie, precum și pe cercetările proprii, Ernst și Helga Gleichmann (1976—1980) ajung la concluzia că la baza apariției limfoamelor maligne și a manifestărilor autoimune stă aceeași reacție grefă-antireceptor sau grefă-antigazdă, prescurtat GvH („Graft-versus-Host“). Recent s-a demonstrat că unele infecții virale sau substanțe chimice pot să altereze structurile antigenice ale complexului major de histo-compatibilitate în așa fel, încît să inducă o reacție imună a cărei simptomatologie este similară cu cea a reacției GvH. Astfel de alterări au fost descrise la virusurile coriomeningitei limfocitare, sarcomului murin, leucemiei murine, vaccinei, herpes-virusurilor (în special Epstein-Barr), ectromeliei, paragripale, reovirusuri etc., precum și la unele substanțe chimice: trinitrofenol, periodat de sodiu, 4-hidroxi-5-iodo-nitro-fenacina, hidantoina etc.

Reacția GvH are loc prin introducerea unor celule imuno-competente, alogene sau semi-alogene, în organisme imuno-supresate; de exemplu, după administrarea de celule splenice semialogene la șoarecii nou-născuți sau timentomizați și iradiați (TX), sau a măduvei hematogene la oameni. Această reacție provoacă o boală experimentală — boala runt — caracterizată prin: cașexie, diaree, adinamism, splenomegalie, limfocitopenie, anemie, boală cu sfîrșit letal. Animalele care supraviețuiesc prezintă în afara unor afecțiuni autoimune grave, o frecvență foarte mare a limfoamelor maligne. Experimental, se poate induce la animalele hibride din prima generație (F_1) realizate în urma încrucișării dintre două linii pure de animale; să spunem linia X și Y. Aceste animale ($X \times Y$) F_1 prezintă antigene de histo-compa-

tibilitate ale ambilor părinți — X de la mamă, Y de la tată — deci tolerează celulele provenite de la oricare din cei doi părinți. În schimb, s-a constatat că dacă acestor hibrizi ($X \times Y$) F_1 li se administrează limfocite imuno-competente de la un părinte — de exemplu X — limfocitele donatorului recunosc ca străine antigenelor de histocompatibilitate ale hibridului primitor, deoarece acestea conțin și antigenelor provenite de la tată, adică Y. Din acest motiv are loc o reacție a grefei, respectiv a limfocitelor imuno-competente ale donatorului — X — împotriva celulelor gazdei (celulelor $(X \times Y)F_1$). În cursul acestei reacții apar un mare număr de autoanticorpi, adică anticorpi împotriva celulelor proprii ale primitorului. Inițial s-a crezut că sursa acestor autoanticorpi sînt limfocitele B ale donatorului. Ulterior s-a constatat că limfocitele T ale donatorului, care recunosc antigenelor străine, dau semnalul de declanșare a producerii de autoanticorpi limfocitelor T ale primitorului (Allison și colab., 1974). Deci, autoanticorpii sînt produși datorită unei cooperări anormale între limfocitele T_H de la donator și limfocitele B ale primitorului, cooperare anormală survine datorită existenței unei diferențe în regiunea I a complexului major de histocompatibilitate. Aceeași incompatibilitate în regiunea I dintre limfocitele T ale donatorului și B ale primitorului se pare că stă la baza producerii limfoamelor și leucemiilor de la aceste animale. Prezența unei diferențe în regiunile K sau D nu are același efect (fig. 22.32).

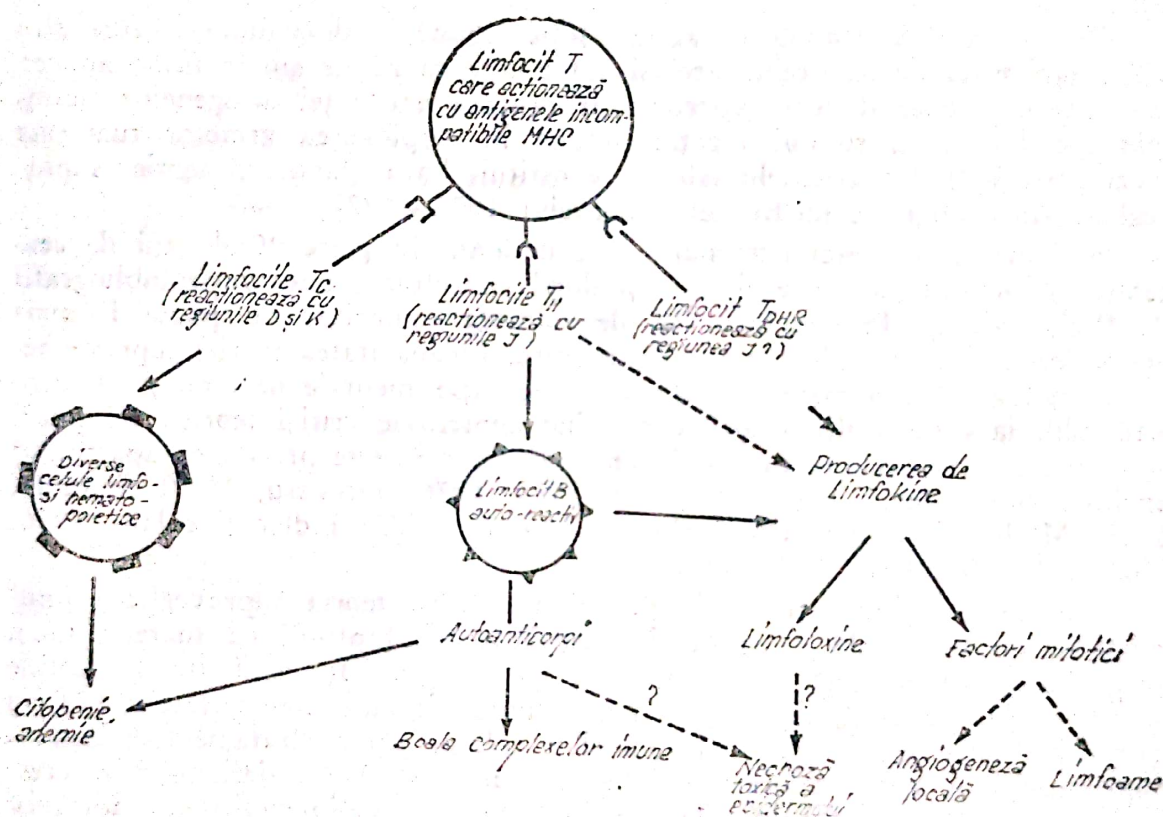


Fig. 22.32. — Schema patogenezei reacțiilor imune contra antigenelor de histocompatibilitate (MHC) în cazul infecțiilor virale sau al reacțiilor de grefă contra gazdei.
 T_C — limfocit T citotoxic; T_H — limfocit T helper; T_{DHR} — limfocit T angajat în reacțiile de hipersensibilitate întârziată (Gleichmann, 1980).

Prin faptul că alterează antigenelor de histocompatibilitate ale celulelor limfo-histiocitare, unele infecții virale sau anumite substanțe chimice determină apariția unei reacții autoimune, reacție împotriva propriilor celule. Astfel, limfocitele T autoloage vor provoca apariția unor efecte similare cu cele din reacția GvH observată la animalele hibride F_1 . De exemplu, alterarea antigenelor de histocompatibilitate determinată de infectarea limfocitelor B cu viru-

sul Epstein-Barr, duce la reacția limfocitelor T contra limfocitelor B alterate. Totodată, cooperarea anormală dintre limfocitele T normale și B modificate determină proliferarea limfocitară excesivă din mononucleoza infecțioasă și limfomul Burkitt. Persistența acestei reacții datorită insuficienței mecanismelor supresoare, determină o limfoproliferare continuă — limfomul Burkitt — în timp ce apariția limfocitelor T duce la autolimitarea reacției limfoproliferative, mononucleoza infecțioasă. Un mecanism similar ar putea sta la baza altor limfoame: imunoblastice, angio-imunoblastice, limfogranulomatoza X, limfomul Hodgkin, la care de asemenea s-a constatat că proliferarea malignă este însoțită de prezența autoanticorpilor (Gleichmann și colab., 1980).

22.5.

Ipoteza imuno-stimulării în dezvoltarea cancerului

Teoria rolului stimulator al reacțiilor imune în dezvoltarea cancerului a fost elaborată de R. Prehn, același autor care cu 20 de ani în urmă aducea cele mai elocvente dovezi experimentale asupra existenței antigenelor tumorale specifice și a rolului reacției imune în respingerea grefelor tumorale (vezi „Istoric”). Experiențele sale au constituit baza elaborării teoriei supravegherii imunologice a lui Burnett (R. Prehn, 1976—1977).

Pe baza experienței personale — acumulată în peste 20 de ani de cercetări în imunologia cancerului — și după consultarea unei vaste bibliografii R. Prehn ajunge la concluzia că dezvoltarea tumorilor nu poate fi atribuită deficitului reacțiilor imune de apărare. Incapacitatea teoriei supravegherii imunologice de a explica unele rezultate experimentale *in vivo* și *in vitro* este subliniată de mulți autori, care aduc numeroase critici teoriei, cel puțin în forma ei originală, în care apărarea antitumorală este privită ca aparținând exclusiv limfocitelor T (Prehn, 1972, 1975, 1976; Howard, 1977; Stutman, 1975; Möller și Möller, 1976; Shearer și Fink, 1977; Fidler și colab., 1976, 1978, 1980; Schwartz, 1975 etc.).

Am mai subliniat în secțiunile anterioare că teoria supravegherii imunologice nu poate da o explicație satisfăcătoare faptului că șoarecii nuzi, în pofida imunodeficienței accentuate, nu fac mai frecvent tumori solide spontane. De ce 90% din bolnavii cu imunodeficiențe congenitale grave nu prezintă o incidență crescută a tumorilor solide? De ce tratamentele imunosupresoare sau bolile anergizante (lepra, sarcoidoza) nu determină o creștere a frecvenței cancerului? De ce timectomia experimentală sau administrarea serului antilinfocitar nu provoacă o creștere dramatică a cancerelor induse chimic? Deci, una din aserțiunile fundamentale ale teoriei supravegherii imune și anume că apariția cancerelor se datorează unei deficiențe imune, nu se confirmă în realitate.

Există zone ale organismului, imunologic privilegiate, în care controlul imun este slab — ca de exemplu corneea, paniculul adipos subcutanat, foliculul pilos — totuși, aceste zone nu fac mai frecvent cancer, deși sînt aproape lipsite de apărare imunologică. Un argument în plus îl constituie lipsa tumorilor spontane în punga facială a hamsterului sirian. Această pungă — folosită de animal pentru transportul hranei — este o zonă imunologic privilegiată, deoarece acceptă orice fel de grefe: alogrefe, xenogrefe

sau grefe tumorale. Cu toate că apărarea imună celulară este deficitară (dovadă toleranța alo- și xenogrefelor), această zonă nu este sediul unei incidențe foarte ridicate a cancerului, așa cum ar fi de așteptat, ci dimpotrivă, nu a fost descrisă nici o tumoare malignă în această regiune.

Ideea stimulării dezvoltării tumorilor prin însăși reacția imună antitumorală a provenit din studierea celui mai natural fenomen de creștere și dezvoltare a unor țesuturi străine în organism, imunologic normal, în pofida barierelor de histocompatibilitate, dezvoltarea fătului în cursul sarcinii. Fetusul scapă de distrugere, deși există numeroase dovezi că mama recunoaște ca străine celulele fătului.

Există date în literatură care arată chiar că, în anumite împrejurări, prezența unei reacții imune antifăt de mică intensitate are efecte binefăcătoare asupra supraviețuirii și creșterii fătului. Același fenomen ar putea să apară și în cazul tumorilor maligne. Pentru a demonstra această ipoteză, Prehn studiază creșterea celulelor tumorale la animale singene foarte deprimare imunologic prin timectomie și iradiere totală. Excluzând astfel sistemul imun propriu al animalului, Prehn (1972) demonstrează că dacă se administrează concomitent cu celulele tumorale un număr mic de celule splenice imune de la animale singene preimunizate are loc o stimulare semnificativă a creșterii tumorilor, comparativ cu administrarea unui număr similar de celule splenice neimune sau imune nespecifice (provenite de la animalele imunizate cu alt tip de tumoare). Deoarece animalul primitor era timectomizat și iradiat (TX), sistemul experimental exclude intervenția unor factori blocați. Ulterior, unii autori au constatat fenomene similare, de stimulare a creșterii tumorilor, indusă printr-un răspuns imun slab atât *in vivo*, cât și *in vitro*.

22.5.1.

Stimularea celulelor tumorale de către anticorpi și complement

Shearer și colab. (1973—1977) au demonstrat *in vitro* pe culturi de linii de celule maligne (HeLa, Hep-2, L) că dozele mici de anticorpi specifici stimulează proliferarea celulelor tumorale, în timp ce dozele mari sînt citotoxice. Anticorpul stimulanți sînt de natură IgG și trebuie să fie bivalenți (Fab nu se stimulează). Pentru stimularea creșterii și metastazării *in vivo* este necesară formarea unor agregate de celule tumorale cu ajutorul anticorpilor.

Același autor arată că complementul augmentează mult efectele anticorpilor specifici, complementul crește efectul citotoxic al concentrațiilor mari de anticorpi și mărește de 1000 de ori efectul citostimulator al concentrațiilor mici de anticorpi. Se pare că factorii cei mai implicați în aceste procese sînt C2 și C3.

Dualitatea efectelor anticorpilor și complementului este reprodusă și *in vivo*. Dozele mici de anticorpi specifici (administrare o singură dată sau repetat în cursul perioadei de creștere a tumorii) produc stimularea dezvoltării tumorilor. Complementul are același efect de augmentare a proprietăților citostimulatoare sau citotoxice ale anticorpilor antitumorali specifici. Din aceste date reiese clar că anticorpul și complementul pot să moduleze dezvoltarea tumorilor incipiente.

Stimularea creșterii tumorilor de către limfocitele sensibilizate specific

Existența unei imuno-stimulări celulare a dezvoltării tumorale este susținută de date experimentale.

— Timestomia neonatală sau administrarea de ser antilinfocitar scade mult incidența cancerelor mamare la șoarecii susceptibili. Dacă se face restitua imună a acestor animale prin grefe de timus, se reinstaurează susceptibilitatea la cancer (Yunis și colab., 1969).

— Melanomul B—16 al șoarecilor este slab imunogen, ca toate tumorile spontane. Dacă șoarecii adulți sînt timestomizați și iradiați total (TX), dezvoltarea melanomului este mult mai lentă. Dacă se administrează acestor animale la o zi după grefarea tumorilor limfocite normale, se restabilește evoluția obișnuită metastazantă a melanomului (Fidler, 1974). Fidler și colab. (1979) au constatat experimental că imuno-depresia influențează în mod diferit metastazarea tumorilor. În cazul tumorilor foarte imunogene (UV-1316), imuno-depresia (animale TX) determină o creștere a metastazării, iar în cele slab imunogene (SF-19) o scădere considerabilă a numărului de metastaze. Administrarea de limfocite normale restabilește capacitatea metastazantă normală în cazul tumorilor slab imunogene. Același autor a arătat că dacă se amestecă celulele tumorale cu un număr egal (sau mai redus) de limfocite singene și se administrează intravenos, se obține o creștere a numărului de metastaze pulmonare. Fidler afirmă că prin interacțiunea dintre limfocite și celulele tumorale se formează microemboli care favorizează sechestrarea inițială intrapulmonară și ulterior dezvoltarea metastazelor. Această ipoteză este susținută și de alte cercetări, care demonstrează că prin expunerea repetată a celulelor tumorale la limfocitele singene imune, se pot selecta linii de celule tumorale rezistente la acțiunea limfocitelor. Aceste celule tumorale imuno-selectate nu mai formează microtrombi cu limfocitele, iar injectate *in vivo* nu mai dau metastaze (Fidler, 1978, 1980).

— Majoritatea argumentelor experimentale în favoarea rolului limfocitelor T supresoare în dezvoltarea tumorilor pot fi invocate și ca argumente care susțin teoria imuno-stimulării (vezi secțiunea 22.3.4.). Întrucît în aceste studii au fost utilizate populații totale de limfocite sau de celule splenice, efectul obținut se poate datora fie subpopulației supresoare (deci prin inhibiția răspunsului imun), fie subpopulațiilor efectoare (deci prin inițierea sau amplificarea ușoară a răspunsului imun).

— Prin studierea a 100 de cancere mamare la șoareci, Vaage (1978) a constatat existența unei corelații directe între capacitatea de metastazare și imunogenitatea tumorilor. Celulele canceroase cu imunogenitate mare, prin administrare intravenoasă dau mai frecvent metastaze (deci exact invers decît ne-am putea aștepta pe baza teoriei supravegherii imune). Fenomenul este confirmat de studiile lui Hager și colab. (1978), care demonstrează că potențialul metastatic al celulelor tumorilor mamare murine este dependent de capacitatea acestora de a induce o reactivitate imună mediată celular *in vitro*.

— Tot *in vitro* s-a constatat că prin stimularea limfocitelor (cu antigen sau concanavalină A) se poate realiza o augmentare a proliferării celulelor tumorale, dacă raportul dintre limfocitele stimulate și celulele tumorale este de 1000:1 și o inhibiție dacă acest raport este mai mare.

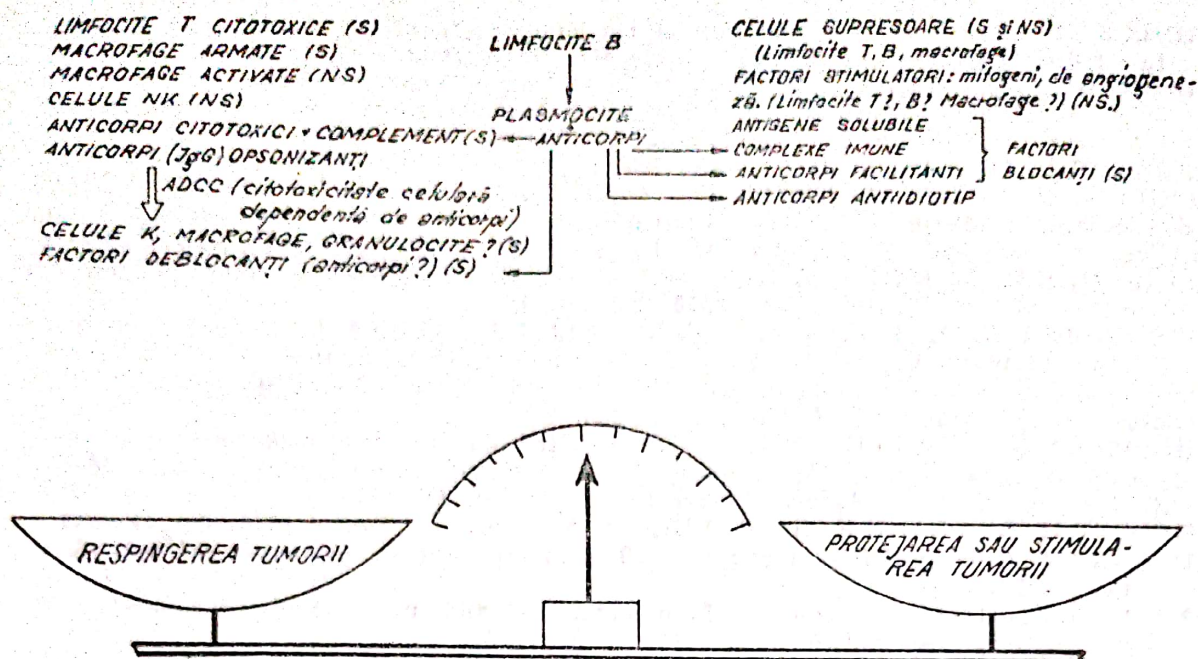


Fig. 22.33. — Reprezentarea schematică a balanței imunitare care influențează evoluția bolii canceroase.

S — acțiune specifică; NS — acțiune nespecifică (Mathé și Cattani, 1976, modificat).

— S-a constatat că în concentrații mici limfotoxinele stimulează creșterea și proliferarea celulelor țintă, iar în doze mari le inhibă.

Datele expuse, precum și rezultatele obținute de alți cercetători, sugerează că creșterea și dezvoltarea tumorilor slab imunogene, așa cum sînt majoritatea cancerelor spontane, este stimulată de reacția imună antitumorală (Prehn, 1976.)

În ultimii 25 de ani opiniile cercetătorilor privind acțiunea sistemului imun asupra dezvoltării tumorilor au oscilat între „nu are nici un rol” și „este apărarea principală” și din nou la „este un mecanism homeostatic de importanță discutabilă” (Prehn, 1976).

Există numeroase argumente care susțin că, în realitate, sistemul imun joacă un rol important în evoluția tumorilor, reacțiile imune însă pot să inhibe sau să stimuleze această evoluție. Nu numai modificările calitative ale răspunsului imun, dar chiar cele cantitative, pot să încline balanța spre respingere sau spre protejarea și stimularea tumorii (fig. 22.33.). Acest echilibru labil, încă insuficient clarificat, în ciuda studiilor intense din acest domeniu, poate fi alterat de modificări, uneori minime, atât ale celulelor tumorale, cît și ale sistemului imun. Din acest motiv, unii imunologi consideră că în stadiul actual al cunoștințelor „intervensiile imuno-terapeutice în bolile maligne se aseamănă cu încercările de a modifica cu o rangă de fier un echilibru extrem de delicat între multiplele componente ale interreactanților” (Weiss, 1978).

Bibliografie

- BACH J. F. (sub red.) — Immunologie, Ed. Flammarion, Paris, 1976.
 BARRETT J. T. — Textbook of Immunology, ed. III, Ed. Mosby Comp., 1974.
 BERCEANU ȘT., PĂUNESCU E. — Biologia și patologia imunității, Ed. Acad. R.S.R., 1981.

- BINZ Z., WIGZELL H. — Regulation of the immune response by anti-idiotypic antibodies. International Congress of Allergol., Pergamon Press, Oxford, 1978.
- BOYSE E. A., OLD L. J., OETTGEN II. F. — Tumour Immunology, sub red. P. A. Miescher, H. J. Müller-Eberhard, in "Textbook of Immunopathology", vol. II, p. 768–788. Ed. Grune & Stratton, N. Y. & Londra, 1969.
- BURNET G. M. — Immunological Surveillance, Pergamon Press, New York, 1970.
- CEROTTINI J. C., BRUNNER K. T. — *Advanc. Immunol.*, 1974, 18, 67–132.
- EISEN H. N. — Antibodies and the cancer problem, in: "Antibodies in Human Diagnosis and Therapy", (sub red.) E. Haber R. M., Krause, p. 287–297, Raven Press New York, 1977.
- FRIEDMAN H., SOUTHAM C. (sub red.) — Internat. Conference on Immunobiology of Cancer., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1976, 276, 1–591.
- FUDENBERG H. H., STITES D. P., CALDWELL J. L., WELLS J. V. (sub red.) — Basic & Clinical Immunology, ed. III. Lange Medical Publ., Los Altos, 1980.
- GERGELY I. — Immunobiológia. Ed. Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1979.
- GEHA R. S. — *New Engl. J. Med.*, 1981, 305, 25–28.
- HEPPNER G. H., MILLER F. R. — Cell-mediated immunity to mammary tumours: so what? in: "Breast cancer: New concepts in etiology and control", 1980, p. 317–329.
- HERBERMAN R. B. — *Advanc. Cancer Res.*, 1974, 19, 207–263.
- HEWITT H. B., BLAKE E. R., WALDER A. S. — *Brit. J. Cancer*, 1976, 33, 241–252.
- HOBART M. J., McCONNELL (sub red.) — The Immune System, Ed. Blackwell Sci. Publ., Oxford, 1976.
- * * * — International Symposium on Immunodiagnosis and immunotherapy of cancer, Erfurt, GDR. — *Arch. Geschwulstforsch.*, 1981, 54, 283–374.
- JÄGER L. — Klinische Immunologie und Allergologie, vol. I și 2, cap. 29; 427–447. VEB, Gustav Fischer Verlag, Jena, 1976.
- JERNE N. K. — *Ann. Immunol. (Paris)*, 1974, 125c, p. 373.
- KATZ D. H. — Lymphocyte differentiation, recognition and regulation, Academic Press, New York, 1977.
- KILBURN D. G., LEVY J. G. — *Cancer Immunol. Immunother.*, 1980, 8, 71–77.
- KLEIN G. — *Transplant. Proc.* 1973, 5, 31–41.
- KLEIN G. — *Harvey Lect.*, 1975, 69, 71–102.
- KLEIN G., KLEIN E. — *Transplant. Proc.*, 1977, 9, 1 095–1 104.
- KLEIN G. — *Cancer*, 1980, 45, 2 486–2 499.
- LIEPINS A., FAANES R. B., CHOI Y. S., HARVEN E. — *Cellular Immunology*, 1978, 36, 331–344.
- MATHÉ G., CATTAN A. — *Cancérologie*, Ed. Expansion Sci., Paris, 1976.
- MESROBEANU I., BERCEANU ȘT. (sub red.) — *Imunobiologie, imunochimie, imunopatologie*, Ed. Acad. R.S.R., 1975.
- MORARU I., PĂUNESCU E., BOROȘ I., ONICA D., SULICA A. — *Dicționar enciclopedic de imunologie*, Ed. științifică și enciclopedică București, 1981.
- OLD L. J. — *Cancer Immunology — Sci Amer.*, 1977, 236, 62–79.
- OLD L. J. — *Cancer Res.*, 1981, 41, 361–375.
- PREHN R. T., MAIN J. M. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1957, 18, 769–778.
- ROITT I. M. — *Essential Immunology*, Ed. a III-a, Blackwell Sci. Publ., Oxford, 1977.
- SELL S. — *Hum. Pathol.*, 1978, 9, 63–69.
- SHILLITOE E. J., RAPP F. — *Springer Semin. Immunopathol.*, 2, 237–259.
- SIMU G. — *Imunitate și cancer*, Ed. medicală, București, 1978.
- * * * — UICC Report: The immune response to solid tumours in man. vol. 22 (sub red.) Stevenson, G. T., Laurence D. J. R., 1975.
- TEODORESCU M., MORARU I. — Imunitatea și alergia, in: „Patologia biochimică”, sub red. I. Teodorescu Exarcu, Ed. medicală, București, 1974, p. 839–885.
- WAKSMAN B. H. — *Ann. Immunol. (Inst. Pasteur)*, 439–447, 1978.
- WAKSMAN B. H. — *Cell. Immunol.*, 1979, 42, 155–169.
- WEISSMAN I. L. — *Prog. Exp. Tumour. Res.*, 1980, 25, 193–218.
- WEISS D. W. (sub red.) — Immunological parameters of host-tumour relationships, Academic Press, New York, vol. II și III, 1973, 1974.
- WEISS L., GLAVES D. — Immunity and metastases, in: "The handbook of cancer immunology", vol. I (sub red.) H. N. Garland, Cap. 8, p. 290–306, STPM, New York, 1978.
- WYBRAN J., STAQUET M. J. (sub red.) — *Clinical Tumour Immunology*, Pergamon Press, Oxford, 1976.

ANTIGENE TUMORALE

- ALEXANDER P. — *Nature*, 1972, 235, 137–140.
- APPELLA E., ROGERS M., LAW L. W. — Biochemical and biological properties of histocompatibility antigens and tumour specific transplantation antigens, in: G. B. Ferrara (sub red.) "HLA system — new aspects", Elsevier, 1977, p. 31–43.
- ABELEV G. I. — *Transplant Rev.*, 1974, 20, 3–37.
- BALDWIN R. W. — Tumour-specific antigens, in: "The physiopathology of cancer" (sub red.) F. Homburger, ed. III, S. Karger, Basel, vol. 1; 1974, 335–392.
- BALDWIN R. W. — *Z. Krebsforsch.*, 1977, 89, 1–8.
- BALDWIN R. W., EMBLETON M. J., PIMM M. V. — Neoantigens in chemical carcinogenesis, in: Griffin și C. R. Shaw (sub red.) "Carcinogens: Identification and mechanisms of action", Raven Press, New York, 1979, 365–379.
- BASOMBRIO M. A., PREHN R. T. — *Int. J. Cancer*, 1972, 10, 1–8.
- BURTIN P. — *Ann. Immunol. (Inst. Pasteur)*, 1977, 138, 507–516.
- CERNY J., ESSEX M. — *Nature*, 1974, 251, 742–745.
- COGGIN J. A. JR., AMBROSE K. R. — *Methods in Cancer Res.*, 1979, 18, 371–389.
- EGAN M. L., ENGVALL E., RUOSLAHTI E., TODD C. W. — *Cancer*, 1977, 40, 458–466.
- FRANCHIMOND P. (sub red.) — Cancer related antigens. Proceedings of the European Economic Communities Symposium, Liège, Ed. Elsevier (North-Holland Biomedical Press), Amsterdam, 1976.
- GOLD P., FREEDMAN S. O. — *J. Exp. Med.*, 1965, 122, 467–481.
- HAMMOND W. G., FISHER F. C., ROLLEY R. T. — *Surgery*, 1967, 62, 124–133.
- HERSEY P. — *Aust. N. Z. J. Med.*, 1977, 7, 526–536.
- HÖLYOKE E. D., CHU T. M., MURPHY G. P. — *Cancer*, 1975, 35, 830–836.
- LAW L. W., ROGERS M. J., APPELLA E. — *Advanc. Cancer Res.*, 1980, 32, 201–235.
- McINTYRE K. R., VOGEL C. L., PRINCLER G. L., PATEL I. R. — *Cancer Res.*, 1972, 32, 1941–1946.
- McINTYRE J. A., FAULK W. P. — *Placenta*, 1980, 1, 197–207.
- NICOLSON G. L., BRUNSON K. W., FIDLER I. J. — *Acta Histochem. Cytochem.*, 1977, 10, 114–133.
- PREHN R. T. — *Cancer Res.*, 1968, 28, 1 326–1 330.
- PREHN R. T. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1975, 55, 189–190.
- ROGERS G. T., SEARLE F., BAGSHAW K. D. — *Nature*, 1974, 251, 519–521.
- SELL S., WEPSIC H. T. — Alpha-fetoprotein, in: The liver: Normal and abnormal function, vol. 5, sub redacția F. F. Becker, M. Dekker Inc., New York, 773–820, 1974.
- SHILLITOE E. J., RAPP F. — *Springer. Semin. Immunopathol.*, 1979, 2, 237–259.
- STEVENS D. P., MACKAY I. R. — *Lancet*, 1973, 2, 1 238–1 239.
- STEWART A. M., NIXON D., ZAMCHECK N., AISENBERG A. — *Cancer*, 1974, 33, 1 246–1 252.
- SHUSTER J., THOMSON D. M. P., FUKS A., GOLD P. — *Exp. Tumor Res.*, 1980, 25, 89–139.
- * * * — Symposium Conference on embryonic and fetal antigens in cancer. — *Cancer Res.*, 1976, 36, 3 384–3 544.
- * * * — Symposium; Conference on clinical use of carcinoembryonic antigen — *Cancer*, 1978, 42, 1 397–1 600.
- * * * — Symposium: Third conference on embryonic and fetal antigens in cancer — *Cancer Res.*, 1974, 34: 2 026–2 141.
- TERRY W. D., HENKART P. A., COLIGAN J. E., TODD C. W. — *J. Exp. Med.*, 1972, 136, 200–204.
- WALDMANN T. A., McINTYRE K. R. — *Lancet*, 1972, 2, 1 112–1 115.
- WHITTINGHAM S., MACKAY I. R. — *Aust. N. Z. J. Med.*, 1977, 7, 172–194.
- ZAMCHECK N., KUPCHIK H. Z. — *Cancer Res.*, 34, 2 131–2 136.
- ZAMCHECK N. — *Cancer*, 1975, 36, 2 460–2 468.

ROLUL COMPLEXULUI MAJOR DE HISTOCOMPATIBILITATE

- BACH F. H., VAN ROOD J. J. — *N. Engl. J. Med.*, 1976, 295, 806–813, 872–878, 927–936.
- BENACERRAF B., McDEVITT H. O. — *Science*, 1978, 175, 273–279.
- BENACERRAF B. — *Science*, 1981, 212, 1 229–1 238.
- BOYSE A. E., CANTOR H. — Immunogenetic aspects of biologic communication: A hypothesis on evolution by program duplication. in: Birth Defects: original article series, 1978, 14, 249–283.

- PIERCE C. W., KAPP J. A., BENACERRAF B. — *Cold. Spring Harbor. Symp. Quant. Biol.*, 1977, 41, 563–570.
 ROSENTHAL A. S., BARGINSKI M. A., ROSENWASSER L. J. — *Federation Proc.*, 1978, 37, 79–85.
 ROSENTHAL A. S. — *New Engl. J. Med.*, 1980, 303, 1 153–1 156.
 UNANUE E. R. — *Advanc. Immunol.*, 1972, 15, 95–165.
 UNANUE E. R. — *New Engl. J. Med.*, 1980, 303, 977–985.
 DEVRIES J. E., MENDELSON J., BONT W. S. — *Nature*, 1980, 283, 574–576.

MECANISME DE SCAPARE

- ALEXANDER P. — *Cancer Res.*, 1974, 34, 2 077–2 082.
 BALDWIN L. W., PRICE M. R., ROBBINS R. A. — *Nature*, (New Biol.), 1972, 238, 185–187.
 COHEN E. P. — *Cancer Biochem. Biophys.*, 1980, 4, 237–243.
 DAVIES D. A. L. — *Transpl. Proceedings*, 1976, 8, 37–39.
 FIDLER J., GERSTEN D. M., HART I. R. — *Advanc. Cancer Res.*, 1978, 28, 149–250.
 FIDLER I. J., KRIPKE M. L. — *Cancer Immunol. Immunother.*, 1980, 7, 201–205.
 FISCHER M. S., KRIPKE M. L. — *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1977, 74, 1 688–1 692.
 FUJIMOTO S., GREENE M., SEHON A. H. — *J. Immunol.*, 1976, 791–799, 800–806.
 GEENBERG A. H., GREENE M. — *Nature*, 1975, 264, 356–359.
 HARRIS T. N., HARRIS S., HENRI E. M., FARBER M. P. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1978, 60, 167–171.
 HELLSTRÖM K. E., HELLSTRÖM I. — *Advanc. Immunol.*, 1974, 18, 209–277.
 KERBEL R. S. — *Amer. J. Pathol.*, 1979, 97, 609–622.
 LAMON E. W. — *J. Nat. Cancer Inst.*, 1977, 59, 769–774.
 SCHIRRMACHER V. — *Immunobiol.*, 1980, 157, 89–98.
 THEOFILOPOULOS A. N. — *Immunol. Today*, 1980, 1, 1–3.
 THEOFILOPOULOS A. N., ANDREW S. B. S., URIST M. M., MORTON D. L., DIXON F. J. — *J. Immunol.*, 1977, 119, 657–663.

CELULE SUPRESOARE

- BRODER S., WALDMANN T. A. — *New Engl. J. med.*, 1978, 299, 1 281–1 284; 1 335–1 341.
 BRODER S., MUUL L., WALDMANN T. A. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1978, 61, 5–11.
 BRODER S., UCHIYAMA K., WALDMANN T. A. — *Amer. J. Clin. Path.*, 1979, 724–731.
 COHN M., EPSTEIN R. — *Cellular. Immunol.*, 1978, 39, 110–124.
 GERSHON R. K. — Suppressor cells, in: "Manipulation of the immune response", 1978, p. 259–271.
 GERSHON R. K. — *Contemp. Top. Immunobiol.*, 1974, 3, 1–40.
 GERSHON R. K. — Suppressor T-cell dysfunction as a possible cause for autoimmunity in: "Autoimmunity" Acad. Press, New York, Cap. 6, 1977, p. 171–181.
 GREENE M. I., DORF M. E., PIERRES M. și colab. — *Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.)*, 1977, 74, 5 118–5 121.
 GOODWIN J. S., WILLIAMS R. C. — *J. Clin. Lab. Immunol.*, 1979, 2, 89–91.
 GOODWIN J. S., HUSBY G., WILLIAMS R. C. — *Cancer Immunol. Immunoth.*, 1980, 8, 3–7.
 HELLSTRÖM K. E., HELLSTRÖM I. — *Proc. Natl. Acad. Sci. (Wash.)*, 1978, 75, 436–440.
 KIRCHNER H. B., GLASER M., HERBERMAN R. B. — *Nature*, 1975, 257, 396–398.
 KLIMPEL G. R., HENNEY C. S. — *J. Immunol.*, 1978, 120, 563–569.
 KRAKAUER R. S., CLOUCH J. D. — *Immunopharmacology*, 1980, 2, 271–284.
 WALDMANN T. A., BLAESE R. M., BRODER S., KRAKAUER L. S. — *Ann. Internal. Med.*, 1978, 88, 226–238.
 WALDMANN T. A., BRODER S., BLAESE R. M., DURM M., GOLDMAN C., MUUL L. — Role of suppressor cells in human disease, in: "Biological basis of immunodeficiency", sub redacția: E. W. Gelfand, H. M. Dosch, Raven Press, New York, 1980, p. 223–239.

TEORIA IMUNOREGLĂRII

- GLEICHMANN E., GLEICHMANN H., WILKE W. — *Transplant. Rev.*, 1976, 31, 156–224.
 GLEICHMANN E., GLEICHMANN H. — *Immunopathology*, 7, 119–130.
 MEREDITH P. J., WARFORD R. L. — Autoimmunity, histocompatibility and aging, in: "Mechanisms of aging and development", 1979, p. 61–77.

23.

Sistemul fagocitar mononuclear și cancerul

CORNELIA TODORUȚIU-PAPILIAN

Cuprins

23.1. Introducere. Generalități —	683
23.1.1. Monoblastele și promonocitele —	685
23.1.2. Monocitele —	685
23.1.3. Macrofagele —	687
23.1.4. Fagocitoza și pinocitoza —	688
23.2. Eterogenitatea macrofagelor —	689
23.2.1. Eterogenitatea metabolică —	690
23.2.2. Eterogenitatea bactericidă —	690
23.2.3. Eterogenitatea enzimelor lizozomale —	690
23.2.4. Eterogenitatea receptorilor IgG și Fc —	690
23.2.5. Eterogenitatea funcțională a celulelor separate prin mijloace fizice —	691
23.2.6. Macrofage „nefagocitare” —	691
23.2.7. Celula Langerhans —	692
23.2.8. Celula dendritică a imunologilor —	692
23.3. Rolul macrofagelor în imunitate —	693
23.4. Rolul macrofagelor în imunitatea antitumorală —	695

23.1.

Introducere. Generalități

Sistemul fagocitar mononuclear este un ansamblu de celule mononucleare, puternic fagocitare, răspândite în întregul organism, având origini și proprietăți morfo-funcționale comune.

Celulele sistemului fagocitar mononuclear derivă din măduva oaselor, iar fagocitele mononucleare prezente în măduvă (precursori), în sânge (monocite) și alte țesuturi (macrofage), sînt diferite etape ale unui proces de diferențiere progresivă (van Furth 1970; van Furth și colab., 1972).

Individualizarea sistemului fagocitar mononuclear s-a făcut în mai multe etape, pornindu-se de la calitatea fundamentală a celulelor acestui sistem, care a permis identificarea lor, capacitatea de a fagocita.

Mecnikov (1892) a introdus termenul de *macrofage* pentru a desemna celulele mononucleare cu proprietate fagocitară, capabile să fagociteze bacterii, celule și particule mari, spre deosebire de polimorfonucleare (*microfage*), responsabile de înglobarea și distrugerea microbilor și particulelor mici. Totodată, a stabilit faptul că fagocitoza este un mecanism natural de apărare.

Recunoscînd legătura morfologică și funcțională dintre macrofagele din splină, ganglionii limfatici și măduva hematogenă a oaselor cu cele din alte țesuturi, deci caracterul lor sistemic, le-a inclus într-un „sistem macrofagic”.

Bazîndu-se pe capacitatea acestor celule de a capta coloranții vitali, Aschoff (1924) le-a încadrat într-un sistem fiziologic pe care l-a denumit „sistem reticulo-endotelial” (SRE), termen utilizat și în prezent de unii autori. Aschoff a inclus în acest sistem două categorii de celule: 1) *celulele reticulo-endoteliale (histiocitele) fixe* (celulele reticulare ale pulpei splenice și ale țesutului limfoid, celulele reticulo-endoteliale din sinusurile limfatice și splenice și din capilarele ficatului, măduvei oaselor, suprarenalelor și hipofizei) și 2) *histiocitele mobile sau migratorii* (histiocitele tisulare, splenice și sangvine).

Volterra (1927) a propus înlocuirea termenului de sistem reticulo-endotelial cu cel de reticulo-histiocitar (SRH), care subliniază aportul mare al histiocitelor în acest sistem.

În ultimii ani a avut loc o adevărată reînviere a interesului pentru rolul fagocitelor mononucleare în organism. În urma unor intensive cercetări efectuate de imunologi, biologi și oncologi, s-a ajuns la concluzia că aceste celule fagocitare nu sînt simpli „gunoieri” ai organismului, cum se credea în concepția clasică, ci dimpotrivă, sînt celule dotate cu importante activități inducătoare și efectoare în imunitatea antimicrobiană, antivirală și antitumorală, în reglarea răspunsurilor imune, în supravegherea imunologică etc.

Cercetările unor autori ca van Furth (1970), van Furth și colab. (1972), Cohn (1968, 1970), Volkman (1976), efectuate la animale cu inflamații cronice, iradiate letal și apoi supuse transplantului de măduvă a oaselor, folosind markeri radioizotopici, antigenici sau cromozomiali, au elucidat problema originii macrofagelor. Fagocitele mononucleare iau naștere din celule precursoră din măduva oaselor, *monoblaste*, care prin diviziuni succesive dau naștere *promonocitelor*, ale căror celule fiice, *monocitele*, sînt eliberate în curentul circulator, unde sînt vehiculate (2—5 zile) în întregul organism; în organele care au condiții create pentru fagocitare, monocitele părăsesc sîngele și se localizează în țesuturile solide, diferențiindu-se în variate tipuri de macrofage fixe, celule puternic fagocitare, care supraviețuiesc în țesuturi mai multe luni sau chiar ani. Această origine și filiație a fost demonstrată de van Furth și colab. (1970, 1972) pentru macrofagele peritoneale și alveolare, limfoganglionare, splenice, hepatice, ale țesutului conjunctiv, nervos și osos.

Macrofagele tisulare sînt ubicuitare, dar ele poartă diferite denumiri în funcție de localizarea lor: în ficat celule Kupffer, în țesutul conjunctiv histiocite, în sînge monocite, în plămîni macrofage alveolare, în splină macrofage dendritice, în sistemul nervos celule microgliale, iar în exsudatele inflamatorii din orice parte a corpului, pur și simplu macrofage (tabelul 23.I).

Macrofagele sau fagocitele tisulare sînt foarte diferite în ceea ce privește localizarea, aspectul, dimensiunea, motilitatea și alte atribute, astfel încît este foarte greu să se facă o descriere generală a lor. Toate au însă caractere funcționale unitare: capacitate fagocitară remarcabilă, capacitatea de a adera la sticlă, proprietatea de a fixa anticorpii citofili, particularitatea de a fagocita antigenele complexate cu imunoglobuline, în prezența sau în absența complementului etc. Datorită acestor proprietăți comune, macrofagele au fost grupate într-un sistem funcțional bine definit sub denumirea de „sistem fagocitar mononuclear” (MFS), în urma propunerii unor experți OMS (van Furth și colab., 1972; Langevoort, 1970). Din acest sistem sînt excluse fagocitele oca-

TABELUL 23.1

SISTEMUL FAGOCITELOR MONONUCLEARE (SFM)
(VAN FURTH ȘI LANGEVOORT 1969)

Celule precursorare	— măduva oaselor
Promonocite	— măduva oaselor
Monocite	— măduva oaselor
	— sânge
Macrofage	— țesut conjunctiv (histiocite)
	— ficat (celule Kupffer)
	— plămîn (macrofage alveolare)
	— splină (macrofage libere și fixe)
	— ganglioni limfatici (macrofage libere și fixe)
	— măduva oaselor (macrofage)
	— cavități seroase (macrofage pleurale și peritoneale)
	— țesut osos (osteoclaste?)
	— sistem nervos (celule microgliale?)

zionale, care sînt lipsite de proprietatea de a fixa și purta Ig sau complementul: fibroblastele, celulele reticulare și celulele endoteliale.

Așa cum s-a arătat, fagocitele mononucleare ale sistemului fagocitar mononuclear includ trei tipuri de celule: precursorarele din măduva oaselor (monoblaste, promonocite), monocitele din sânge și macrofagele tisulare. Macrofagele tisulare derivă atît din monocitele sangvine, cît și din proliferarea locală a macrofagelor. Ele au capacitatea de a se înmulți în țesuturi, după stimularea fagocitară sau imunitară, fiind în acest fel mult mai numeroase decît monocitele circulante.

23.1.1.

Monoblastele și promonocitele

Celulele precursorare ale monocitului sînt monoblastele și promonocitele din măduva oaselor. În prezent lipsesc mijloacele specifice pentru recunoașterea monoblastelor, deși se presupune că aceste celule sînt elemente ale măduvei oaselor, probabil nedistincte de mieloblaste (Lessing și Bessis, 1972).

La animalele de experiență s-a pus în evidență în măduva oaselor o porție mică de celule fagocitare, care sintetizează ADN, aderă la suprafețele de sticlă și conțin esterase nespecifice (van Furth, 1970). Aceste celule, denumite promonocite, sînt considerate intermediare între monoblaste și monocitele singelui periferic (Fedorko și colab., 1970; van Furth, 1970; van Furth și colab., 1972). Studii cito-chimice au permis identificarea și în măduva oaselor umană a promonocitelor, celule bogate în peroxidaze, fosfataze acide și aryl-sulfatază.

23.1.2.

Monocitele

Monocitele se găsesc atît în sângele periferic, cît și în numeroase țesuturi și cavități ale corpului. Monocitele sînt celule cu un diametru de 12—17 μ și nucleu voluminos, excentric, rotund, neregulat sau reniform. Citoplasma conține vacuole, granulații azurofile și dă reacție histo-chimică po-

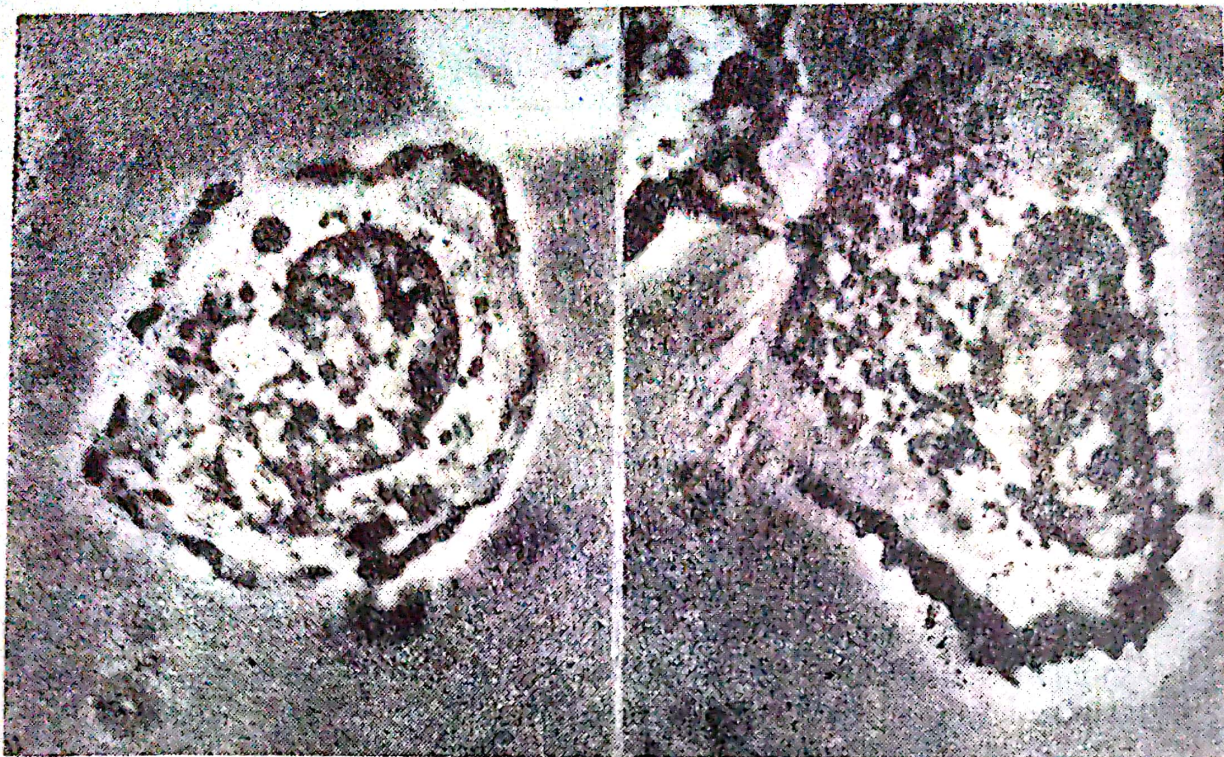


Fig. 23.1. — Aspectul unui monocit (a) și al unui macrofag (b) în stare vie la microscopul în contrast de fază. (Lessing și Bessis).

zitivă pentru esterazele nespecifice. Examineate în stare vie, în contrast de fază (fig. 23.1), ele prezintă, ca și macrofagele, mișcare activă prin vârluri citoplasmice ondulatorii și totodată o tendință pronunțată de aderenare și etalare pe suprafețe străine (sticlă, plastic) (Fedorko și colab., 1970; Lessing și Bessis, 1972; North, 1970). Extensiunea etalării crește în prezența complexelor antigen-anticorp, unele metale bivalente și enzime proteolitice (Rabinovitch și colab., 1973; Douglas, 1976). La microscopul electronic (fig. 23.2) citoplasma monocitelor prezintă la suprafață numeroși microvili și vezicule. Ea conține un reticul endoplasmatic slab dezvoltat, numeroase mitocondrii, complex Golgi bine dezvoltat, granule bogate în fosfatază acidă și aryl-sulfatază, lizozomii primari (Axline și Cohn, 1970), care după endocitoză fuzionează cu fagozomul, formînd lizozomii secundari.

Transformarea monocitelor în macrofage și celule gigante multinucleate a fost demonstrată *in vitro* prin studiile devenite clasice ale lui Lewis și Lewis (1926), Maximow (1932), Ebert și Florey (1939). Aceste studii au fost recent reproduse de Bennett și Cohn (6), utilizînd populații pure de monocite. În decursul transformării monocitelor în macrofage au loc transformări structurale și funcționale (Sutton, 1966; Fedorko și colab., 1970; Lessing și Bessis, 1972; Douglas, 1976). Pe măsură ce monocitul își urmează evoluția spre macrofag, își mărește volumul, iar membrana celulară este animată de mișcări active ondulatorii și prelungiri dendritice. Această transformare este însoțită de dezvoltarea unui sistem de organe celulare, reprezentînd un echipament foarte activ, necesar îndeplinirii endocitozei; crește numărul lizozomilor, precum și conținutul lor de enzime hidrolitice (fosfataze, esteraze, beta-glucuronidază, lizozim, aryl-sulfatază etc.); crește numărul și dimensiunea mitocondriilor paralel cu metabolismul lor energetic, iar aparatul Golgi își mărește dimensiunea și complexitatea veziculelor; la marginile celulei pinocitoza și fagocitoza se amplifică, cu formarea consecutiv de numeroși lizozomi secundari, prin fuziunea lizozomilor primari și a fagozomilor.

Fig. 23.2. — Aspectul electrono-microscopic al unui monocit mare.

N: nucleu; G: complex Golgi; *er*: reticul endoplasmatic rugos; *r*: poliribozomi; *m*: mitocondrii; *L*: granulații lizozomale; *pv*: vezicule de pinocitoză.



23.1.3.

Macrofagele

Pe frotiuri macrofagele apar ca celule voluminoase ($20-50 \mu$), cu nucleu excentric, reniform sau fuziform, cu 1—2 nucleoli distincți. Citoplasma, cu marginile neregulat dințate, conține granulații azurofile mari și vacuole situate aproape de periferia celulară, reflectând pinocitoza activă. În contrast de fază (fig. 23.1) apar ca celule mari, cu vâluri clare de hialoplasmă desfășurate de jur-împrejurul celulei, cu o intensă cutare a marginilor membranei (Lessing și Bessis, 1972) și o tendință caracteristică de a adera și a se etala pe suprafețele de sticlă. În jurul periferiei, ca și în interiorul celulei, se observă vezicule și vacuole contractile.

La microscopul electronic macrofagele prezintă grade diferite de diferențiere, de „imaturitate”, privind nucleul, ribozomii, mitocondriile și conținutul lizozomal (Fedorko și Hirsch, 1970). Nucleul are pori nucleari relativ abundenți. Aparatul Golgi, bine dezvoltat, conține numeroase vezicule, unele cu incluziuni dense, care arată caracterul lor de lizozomi primitivi (Cohn, 1968). Numărul și dimensiunile mitocondriilor variază în raport cu activitatea fagocitară și deci metabolică a celulei. Ele sînt grupate fie în jurul zonei Golgi, fie dispersate

de jur-împrejurul periferiei celulare, probabil furnizînd energie pentru procesele endocitare active, care survin aici. Cea mai constantă și caracteristică trăsătură ultrastructurală a macrofagelor o reprezintă lizozomii, mărginiți de o membrană electronodensă, care adesea sînt văzuți fuzionînd cu fagozomii pentru a forma lizozomii secundari (North, 1970). În lizozomii secundari se pot observa materiale ingerate, celulare și necelulare, bacterii etc. în diferite stadii de degradare. Lizozomii conțin un spectru larg de enzime hidrolitice, cu rol fundamental atît în degradarea corpurilor străine fagocitați, cît și în procesele citotoxice celulare mediate de macrofage. Reticulul endoplasmatic sîrac sugerează că ele nu sintetizează proteine. O trăsătură constantă a acestor celule angajate în endocitoză este numărul mare de microvili pe suprafața celulară, al căror grad de dezvoltare este legat de activitatea fagocitară și pinocitară foarte exprimată. Membrana celulară conține un sistem contractil de microfilamente bine dezvoltat. Tot în membrană se găsesc frecvenți receptori Fc și C3, conform datelor imunologice.

23.1.4.

Fagocitoza și pinocitoza

Celulele sistemului mononuclear fagocitar au proprietatea fundamentală și caracteristică de a capta prin fagocitoză sau pinocitoză particule sau macromolecule străine sau proprii, pe care în mod obișnuit le degradează intracelular. Această proprietate fagocitară este filogenetic cel mai vechi mecanism de apărare care intervine în realizarea homeostaziei imunologice (Boroș, Moraru și colab., 1981).

Fagocitoza și pinocitoza sînt fenomene celulare de endocitoză, proces de captare intracelulară.

Pinocitoza este procesul de captare a macromoleculelor solubile din mediul extracelular, care sînt atașate și apoi invaginate prin endocitoză de către fagocite (Boroș, Moraru și colab., 1981). Pinocitoza este un fenomen general celular, apare la toate celulele care se bazează pe o aprovizionare nutritivă extracelulară, deoarece este mai puțin dependentă de particularitățile metabolismului energetic și ale membranei celulelor fagocitare.

Fagocitoza, descrisă mai întîi de Mecinikov (1887) este procesul de captare prin endocitoză de către fagocite a particulelor de origine exogenă (bacterii, virusuri, fungi) sau endogenă (celule alterate fiziologic sau malign, resturi celulare).

Fagocitoza se desfășoară în mai multe faze: 1) legare; 2) ingestie; 3) formare lizozomă secundară; 4) degradare enzimatică; 5) închiderea veziculei și îndepărtarea materialului degradat (Lessing și Bessis, 1972).

După o chemotaxie activă spre corpul străin, fagocitul mononuclear inițiază faza de legare, care pare să necesite prezența unor imunoglobuline opsonizante pe suprafața celulei de fagocitat (LoBuglio și colab., 1967; Huber și colab., 1968). Fagocitul mononuclear are pe membrana sa plasmică situri de legare (receptor Fc, receptor C) pentru porțiunea Fc a imunoglobulinei, pentru al 3-lea component al complementului și pentru legarea limfocitelor (Huber și colab., 1968).

După faza de legare survine faza următoare, de ingestie. Mobilizarea membranei duce la învelirea treptată prin prelungiri citoplasmice a materialului legat, care pătrunde în citoplasmă într-o vacuolă endocitară (fagozom), al cărei perete este constituit din porțiunea de membrană care s-a interiorizat și apoi s-a desprins de la suprafața celulei. Prin contactul direct al vacuolei endocitare cu un lizozom primar are loc labilizarea membranei acestui organit, urmată de deversarea conținutului său enzimatic în fagozom și constituirea fagolizozoturat, de exemplu omorîrea microbilor fagocitați prin mecanisme diverse (pH acid, acid lactic, melor hidrolitice lizozomale macrofagele sînt capabile să degradeze variate structuri proteice, lipidice, polizaharidice. Produsele de degradare rezultate pot fi utilizate de celula fagocitară sau sînt eliminate la exterior prin procesul de endocitoză inversă sau exocitoză.

Endocitoza intervine în numeroase procese fiziologice (catabolismul imunoglobulinelor, eliminarea celulelor autoloage îmbătrânite funcțional) sau patologice (înlăturarea agenților microbieni, a celulelor maligne etc.) (Boros, Moraru și colab., 1981).

Datorită acestor proprietăți funcționale macrofagele sînt extrem de importante pentru răspunsul imun, în degradarea agenților infecțioși, în prelucrarea și păstrarea determinantilor antigenici, în răspunsul imun specific și în imunitatea celulară nespecifică. Această ultimă condiție este legată de capacitățile distructive intensificate ale macrofagelor „activate”.

Conceptul de activare macrofagică a fost introdus de Mackaness și colab. (1971), care a descris această nouă stare macrofagică, caracterizată printr-o activitate microbicidă intensificată.

Macrofagele activate sînt extrem de active metabolic, implicînd o capacitate fagocitară intensificată față de toate particulele, indiferent de natura antigenică a stimulului care a provocat producerea ei (Bennett și Cohn, 1966).

Spre deosebire de cele normale, macrofagele activate, se caracterizează prin particularități morfo-funcționale și biochimice: mărire de volum, membrane plasmatică ondulantă cu capacitate de aderare și etalare foarte crescute, capacitate fagocitară excepțională, în special pentru particulele opsonizate, creșterea activității enzimatică lizozomale, secretare de monokine, de proteaze neutre (activatori ai plasminogenului, elastază, collagenază), modificarea markerilor celulari de suprafață, cum sînt ectoenzimele (de ex. APD-I — alkin-phosphodiesteraza I — scade în macrofagele cu activitate tumoricidă (Morahan et al., 1982).

Activarea macrofagică poate fi indusă prin variate substanțe (endotoxine bacteriene, ARN dublu catenar, adjuvanți). Factori derivați din limfocitele T — *limfokinele* — pot de asemenea să activeze macrofagele. Macrofagele activate pot interveni nespecific sau/și uneori specific în procesele de citotoxicitate antitumorală.

Spre deosebire de macrofagele activate, *macrofagele stimulate*, mobilizate în cavitatea peritoneală ca răspuns la inductorii exsudatelor inflamatorii sterile (peptonă, tioglicolat, polivinil-pirolidonă, glicogen, ulei mineral etc.), deși au funcțiile (fagocitoză, migrare, chemotaxie) mult intensificate datorită stimulării metabolismului celular, nu manifestă activitate tumoricidă (Hibbs și colab., 1978).

23.2.

Eterogenitatea macrofagelor

Celulele sistemului fagocitar mononuclear, larg răspîndite în întregul organism, reprezintă o populație celulară considerată eterogenă din punct de vedere morfologic. Dar în urma numeroaselor investigații efectuate în ultimii ani, li se atribuie astăzi macrofagelor numeroase funcții, fapt care a dus la concluzia existenței unor subpopulații macrofagice distincte, specializate pentru anumite funcții (Stuart, 1977). Macrofagele fagocitare mononucleare constituie un sistem celular caracterizat printr-o *eterogenitate verticală*, în raport cu diferitele situri organice, și printr-o *eterogenitate orizontală*, în cadrul aceluiași organ. Eterogenitatea poate fi legată de stadiile de diferen-

țiere celulară, sau de existența unor subpopulații celulare diferite morfo-funcțional (Morahan et. al. 1982).

În lucrarea prezentată la Simpozionul EURES asupra macrofagului și cancerului (1977), A. E. Stuart (1977) face o trecere în revistă a cunoștințelor actuale asupra eterogenității fiziologice a macrofagelor.

23.2.1.

Eterogenitatea metabolică

Între diversele populații macrofagice pot să apară diferențe metabolice. De exemplu macrofagele alveolare au o rată mai ridicată de captare a oxigenului și manifestă o notabilă stimulare a activității respiratorii la adăugarea de glucoză, comparativ cu congenerile lor peritoneale. Ambele subpopulații macrofagice avînd originea în măduva oaselor, se crede că diferențele metabolice ar fi o reflectare a modulării celulare sau un răspuns al celulei la mediul înconjurător (Weiden și colab., 1975). De asemenea, s-au observat diferențe cito-chimice între macrofagele rezidente (locale) și macrofagele derivate din monocite în procesele inflamatorii (Daems și colab., 1976). Macrofagele rezidente sau tisulare au activitate peroxidazică în reticulul endoplasmatic rugos, spre deosebire de ultimele, care au această activitate restrînsă numai la granule. Încă nu este lămurit faptul dacă macrofagele tisulare sînt rezultantele autoreplicării sau dacă sînt într-un echilibru lent cu poolul din măduva oaselor (Stuart, 1977).

23.2.2.

Eterogenitatea bactericidă

Primele indicații asupra eterogenității funcționale a macrofagelor provin din studii asupra interacțiunii *in vitro* dintre macrofage și bacterii, observîndu-se că în timp ce unele bacterii sînt ingerate și omorîte, altele supraviețuiesc și se multiplică. S-a demonstrat că aceasta nu se datorește variațiilor în populațiile bacteriene, ci eterogenității populațiilor macrofagice în ceea ce privește proprietățile antibacteriene. Prin manipulări artificiale, cum ar fi administrarea de vaccinuri și/sau adjuvanți li se pot induce macrofagelor proprietăți bactericide mai mari. Aceste macrofage sînt diferite morfologic de celulele normale: sînt mai mari, conțin un aparat Golgi mai dezvoltat, numeroase mitocondrii și lizozomi și aderă rapid la sticlă. Ele corespund histiocitelor reactive ale anatomo-patologilor.

23.2.3.

Eterogenitatea enzimelor lizozomale

Studiindu-se distribuția intracelulară a hidrolazelor acide în macrofagele peritoneale de șoarece, normale sau obținute după stimulare cu tio-glicolat (Wiener și Curelaru, 1975), s-a constatat o distribuție enzimatică eterogenă, care a fost atribuită stărilor fiziologice de endocitoză stimulată, care determină o formare continuă de lizozomi primari și secundari. La fel, Todoruțiu C. și colab. (1981) constată o intensă creștere a fosfatazei acide în macrofagele peritoneale, de șoarece, activate cu adjuvanți bacterieni (*Corynebacterium parvum* și Polidin).



23.2.4.

Eterogenitatea receptorilor IgG și Fc

O caracteristică a fagocitelor mononucleare este prezența receptorilor IgG și Fc pe membrana celulară.

Utilizând complexe imune marcate radioactiv, antiovoalbumină, pentru a marca acești receptori în celulele din exsudate, induse cu ulei de parafină la cobai, Csaba și colab (1976) constată o eterogenitate funcțională a macrofagelor.

Rhodes (1975) a studiat activitatea receptorilor Fc ai macrofagelor în ceea ce privește reactivitatea lor cu eritrocite de oaie acoperite cu anticorpi IgG constând o aviditate de trei ori mai mare la populațiile peritoneale decât la cele alveolare. Macrofagele inflamatorii stimulate *in vivo* cu ulei mineral au manifestat o aviditate crescută pentru aceste eritrocite.

Activarea funcțiilor receptorilor Fc ar putea să favorizeze prezentarea antigenului limfocitelor T și astfel să influențeze uciderea dependentă de anticorpi a celulelor tumorale prin macrofage, jucând astfel un rol reglator în ceea ce privește inducerea imună și arma efectoare a răspunsului gazdei (Stuart, 1977).

23.2.5.

Eterogenitatea funcțională a celulelor separate prin mijloace fizice

Macrofagului i se atribuie diverse roluri în inducerea răspunsului imun; pentru unii autori este o celulă de curățire care degradează antigenul în produse neimunologice, pentru alții este un intermediar necesar între sistemele celulelor T și B și, în fine, pentru alții ar fi necesară doar pentru inducerea unui răspuns optim.

Încercînd să împacă aceste diversități de funcții ale macrofagului, unii autori ca Walker (1976), Rice și Fishman (1974), Zembala și Asherson (1970) susțin că macrofagele au capacitatea de a exprima o activitate imună eferentă, în funcție de subclase, care pot fi izolate din întreaga populație de macrofage prin mijloace fizice. Astfel, macrofagele peritoneale, după ce au fost separate în cîteva subpopulații prin centrifugare în gradient, au fost studiate în ceea ce privește proprietățile fagocitare și prezența ARN imunogen. S-a constatat o eterogenitate a funcției fagocitare și endocitare, majoritatea macrofagelor avînd însă proprietăți marcate fagocitare; producerea de ARN imunogen s-a dovedit însă a fi o proprietate a unei subpopulații celulare restrînse, cu slabe proprietăți fagocitare și endocitare. Cercetările acestor autori duc la concluzia că ar exista cel puțin două tipuri de macrofage: 1) o populație majoritară de gunoier, reprezentată prin celule care degradează antigenul și 2) o populație minoritară care reacționează cu antigenul și induce producția de anticorpi prin formare de ARN informațional sau al unui complex al ARN cu antigenul.

23.2.6.

Macrofage „nefagocitare“

Termenul de macrofag „nefagocitar“ a fost utilizat de Greenberg și colab. (1973), care a studiat celula citotoxică efectoare responsabilă de liza



eritrocitelor de pui acoperite cu anticorpi, din suspensii de celule splenice. Îndepărtând celulele fagocitare prin tratare cu pudră de fier, autorii constată pe întreaga suspensie celulară o scădere de numai 20% a citotoxicității, iar după o îndepărtare și a celulelor B purtătoare de Ig observă o creștere a acesteia. Celulele citotoxice obținute de acești autori aderă la sticlă și se pare că ar fi monocite, operînd probabil printr-un mecanism litic extracelular. Aderă la sticlă și se pare că ar fi monocite, operînd probabil printr-un mecanism litic extracelular.

Allison (1972) a descris de asemenea, în exsudatul peritoneal, celule imune nefagocitare, aderente și a sugerat că acestea ar fi angajate în reacțiile citotoxice mediate celular, dependente de anticorpi. Boyle și Ormerod (1975) au izolat o subpopulație de celule aderente, cu potențial citotoxic față de celule tumorale țintă specifice.

Nathan și colab. (1976) au izolat de asemenea dintr-o populație celulară total aderentă o subpopulație de celule nefagocitare, cu reacție pozitivă pentru esterase și care au inhibat intens replicarea diferitelor celule tumorale *in vitro*.

Holden și colab. (1976) a investigat funcția efectoare a celulelor gazdă recoltate direct dintr-o tumoare virotică de tip sarcomatos, de șoarece. Pe lângă răspunsul citotoxic puternic al celulelor T, autorul a mai înregistrat o puternică activitate de inhibare a creșterii celulelor tumorale, mediată de alte celule efectoare prezente în tumoare, care aveau receptori Fc, erau rezistente la tratamentul cu ser anti-theta și au fost îndepărtate prin coloane de separare. S-a presupus că aceste celule sînt macrofage; ele erau formate din două subpopulații diferite din punctul de vedere al proprietăților fagocitare, una fagocitînd bine eritrocitele sensibilizate, iar cealaltă de loc.

23.2.7.

Celula Langerhans

Celulele Langerhans, contrar părerii autorului german care le-a descris primul în epiderma umană, considerîndu-le ca elemente neurale, sînt celule dendritice sau ramificate, cu rol în reacțiile de hipersensibilitate cutanată și adesea pot fi văzute în contact strîns cu limfocite; deși par slab fagocitare, ele leagă diverși alergeni și anumite metale. Rowden și colab. (1977) au demonstrat că aceste celule au exprimate antigene Ia. Antigenele Ia sînt glicoproteine de suprafață, care au fost detectate și la macrofage, la limfocitele B și în cantități mici și la limfocitele T. Celulele Langerhans conțin, de asemenea, și receptori Fc și C3, importanți pentru fagocitoză, deoarece receptorii C3 leagă situsul C3 al complexului imun, iar receptorii Fc sînt responsabili pentru faza de ingestie; ei sînt operativi și în reacțiile citotoxice dependente de anticorpi.

23.2.8.

Celula dendritică a imunologilor

Celula dendritică a imunologilor este o celulă dendritică sau ramificată, care se găsește mai frecvent în foliculii limfoganglionilor și splinei. Aceste celule rețin antigenul pe suprafața lor și în înfundăturile din membrană. Sînt nefagocitare și sînt diferite morfologic de macrofage (Nossal și colab., 1968).

Rolul macrofagelor în imunitate

Macrofagele sînt celule efectoare cu rol important în rezistența naturală (înnăscută) a organismului, prin proprietățile lor fagocitare, care din punct de vedere filogenetic reprezintă cele mai vechi elemente ale imunității naturale. Macrofagele, așa cum s-a dovedit în urma numeroaselor cercetări moderne, intervin de asemenea și în reacțiile imune ale imunității dobîndite (Păunescu, 1975; Keller, 1977).

Progresele realizate în ultimii ani în domeniul imunologiei au demonstrat că răspunsul imun se realizează prin complicate interacțiuni de cooperare celulară, în care sînt angajate atît cele două linii distincte de limfocite imunoreactive (limfocitele T și B), cît și fagocitele mononucleare sau macrofagele.

Macrofagele sînt celule cu rol important în *apărarea nespecifică*, în calitate de celule fagocitare care se acumulează în reacțiile inflamatorii subacute sau cronice, ca și în *imunitatea specifică*, unde intervin în faza inductivă a răspunsului imun (prelucrarea antigenului, cooperarea directă sau mediată prin monokine cu limfocite B sau T), precum și în faza efectoare (efectul citostatic sau citotoxic al macrofagului activat) (Boroș, Moraru și colab., 1981).

Este bine stabilit *in vitro*, ca și *in vivo*, faptul că macrofagele sînt necesare pentru inducerea, precum și pentru exprimarea reacțiilor imune. Sînt dotate cu funcțiuni complexe în distrugerea ori reținerea și prelucrarea antigenului și în secretarea unor substanțe modulatorie.

Rolul macrofagelor în *captarea și prelucrarea antigenelor*, ca primă treaptă a arcului aferent al răspunsului imun (Cline, 1972) este astăzi general. Ele reprezintă o populație celulară esențială în supravegherea imunologică (Lejeune, 1975; Hibbs, 1978 a, b).

Macrofagele sînt capabile să recunoască prin mecanisme neimune substanțele străine pentru organism, să le ingere și să le digere parțial, păstrînd intactă informația antigenică, pe care o transmit celulelor imunocompetente. Ele captează antigenele printr-un proces selectiv și activ de endocitoză și apoi le „prelucrează”, scindîndu-le prin procese enzimatic. În urma „prelucrării” (catabolizării) antigenelor, fragmente de antigen se pot asocia cu ARN din macrofage, formînd complexe cu antigenitate mult crescută față de antigenul original, denumite superantigene de Askonas și Rhodes (1965). Cercetări mai noi arată însă că determinanții antigenici nelegați de ARN, păstrați în membrana celulară macrofagică, pot să declanșeze răspunsul imun prin prezentarea antigenului celulelor imuno-competente (Benacerraf 1981).

Antigenele pot fi deci prezentate limfocitelor de către macrofage, pentru recunoaștere imună, pe două căi: 1) fie asociate cu membrana plasmică pentru perioade mai lungi, fie 2) prin eliberare din celulă, după ce în prealabil au fost captate și prelucrate (Unanue, 1968, 1975).

Un antigen care este legat de un macrofag este puternic imunogen (Unanue, 1968; Mitchison, 1969).

Treapta următoare a reacției imune este *cooperarea macrofagelor cu limfocitele T și B*. Prin această cooperare macrofag-limfocit se înțelege diverse interacțiuni celulare implicate în variate procese imune.

Limfocitele elaborează factori activi biologici, care modifică comportamentul macrofagelor, atrag și activează macrofagele, factori care au fost denumiți de Dumonde și colab., (1969). *limfokine*.

Limfokinele sînt mediatori solubili prezenți de obicei în supernatantul culturilor de celule limfoide stimulate *in vitro* cu un agent care induce activarea limfocitară specifică (antigen) sau nespecifică (mitogen). Generarea lor reflectă în primul rînd funcția limfocitului T, deși în anumite condiții pot fi sintetizate și secrete și de limfocitele B.

În ultimii ani au fost descrise numeroase limfokine în asociere cu limfocitele activate. Încă necaracterizate din punct de vedere fizico-chimic, ele sînt definite și clasificate pe baza activităților lor biologice (Boroș, Moraru și colab., 1981):

Factorul de inhibiție a migrării macrofagului și monocitului (abreviat de autorii anglo-saxoni MIF), prima limfokină definită, este un mediator solubil capabil să inhibe mișcarea spontană a celulelor mononucleare. Elaborat în urma activării celulei T și uneori și celulei B, fie sensibilizată și restimulată cu antigenul specific, fie tratată cu mitogen, MIF are un efect principal asupra macrofagelor, de creștere a aderenței celulare, dar are și efecte secundare, de activare celulară (macrofag activat), efecte similare cu cele induse de o altă limfokină, denumită **factorul de activare a macrofagului** (MAF).

Sub influența **factorului de activare** (MAF) macrofagul devine un **macrofag activat**, caracterizat prin creșterea aderenței, etalării protoplasmei, motilității, fagocitozei, proprietăților bacteriostatice și bacteriolitice față de germenii facultativi intracelulari și care manifestă efecte citostatice sau citolitice asupra celulelor țintă tumorale. Această activare macrofagică este declanșată de limfokinele produse de limfocitul T (fig. 24.3, 24.4, 24.5).

Factorul de armare specifică a macrofagului (SMAF) este o limfokină care armează macrofagul normal cu capacitatea de a recunoaște specifice și apoi a ucide celula țintă determinată.

Factorul chemotactic (CF) este o limfokină elaborată de celula T activată, care are efect chemotactic asupra macrofagelor și monocitelor.

Factorul de activare a pinocitozei (PAF). Numeroase cercetări din ultimii ani au demonstrat că și macrofagele la rândul lor produc și secretă produși cu o largă gamă de activități biologice (Davies și Allison, 1976; Gordon, 1976; Page și colab., 1978; Gery și Davies, 1979). Diferiți produși ai macrofagului modulează funcțiile limfocitare, unii având acțiuni stimulatorie, alții acțiuni inhibitoare (Gery și Davies, 1979).

Macrofagele intervin în reglarea răspunsului imun printr-o dublă acțiune, stimulatorie sau inhibitoare asupra răspunsurilor imune. Interacțiunea dintre macrofage și limfocite este reciprocă, macrofagele fiind stimulate de limfokinele limfocitare, iar ele, la rândul lor influențează diversele funcții ale celulelor limfoide (Gery și Davies, 1979). Prin prezentarea antigenului sau prin producerea unor mediatori solubili (monokine) antigen-specifice (exemplu factorul înrudit genetic, factor de activare limfocitară (GRF), macrofagele determină activarea celulelor B sau T și implicit declanșează răspunsul imun specific. Macrofagele reglează intensitatea și calitatea răspunsului imun, fie în sens stimulator (exemplu factorul de activare limfocitară), fie inhibitor (exemplu factorul inhibitor al sintezei ADN (Boroș, Moraru și colab. 1981). Efectul inhibitor al macrofagelor asupra limfocitelor realizează un adevărat feedback negativ asupra sistemului imun (Gery și Davies, 1979).

Printre factorii elaborați de macrofage, cu rol important în organism, au fost identificați următorii:

- **Proteina mitogenă**, o monokină produsă de macrofagul activat, a cărei eliberare este stimulată de fagocitoză, este abolită în stare de activare a macrofagului.

- **Factorul de activare limfocitară** reglează diferențierea și proliferarea timocitului și limfocitului T. Producerea sa este indusă fie de celula T activată, fie de diferiți agenți, cum ar fi endotoxina O.

- **Factorul inhibitor al sintezei ADN** este o monokină cu rol inhibitor al proliferării celulelor limfoide și nelimfoide, normale sau tumorale și probabil și cu rol citostatic asupra anumitor celule.

- **Factorul înrudit genetic** (factorul GRF) este o monokină elaborată de macrofage tratate *in vitro* cu un antigen și care este implicată în cooperarea macrofag-limfocit. Dacă este adăugată unei suspensii de limfocite singenice, în absența macrofagului și antigenului, acționează asupra limfocitelor T timpurii, pe care le transformă astfel în limfocite T ajutoare și permite declanșarea răspunsului umoral.

Pe de altă parte, macrofagele elaborează și **prostaglandine** (PGS), substanțe considerate ca **hormoni celulari sau locali**, care pot influența răspunsurile limfocitare *in vitro* și reacțiile imune *in vivo*. Acestea inhibă răspunsurile imune *in vivo* (exemplu respingerea alofidelor la șoareci sau răspunsul umoral față de eritrocitele de oaie), ca și variate răspunsuri limfocitare *in vitro* (proliferarea ca răspuns la mitogeni ori antigeni, reproducerea de limfokine) (Gery și Davies, 1979). Datorită acestei inhibări a producerii de limfokine, Gordon și colab. (1976) consideră că PGS joacă un rol în mecanismul feedback al imunoreglării. Prostaglandinele au fost considerate ca mediatori activi în alte două sisteme ale imunosupresiei *in vivo* și anume cele induse prin limfocitele imunosupresoare (Webb și Nowowiejki, 1977) sau prin celulele tumorale (Plescia și colab., 1975). Efectul imunosupresor al tumorilor s-a constatat a fi proporțional cu numărul macrofagelor din aceste țesuturi (Eccles și Alexander, 1974 a, b), iar participarea activă a macrofagelor în realizarea efectelor celulelor T supresoare este bine stabilită (Gery și Davies, 1979).

Macrofagele secretă și factorul CSF (colony stimulating factor) care reglează proliferarea preprilor săi precursori din măduvă. Acest mecanism regulator de feedback pozitiv permite

macrofagului să controleze atât recrutarea macrofagelor din celula sușă, cât și proliferarea din macrofagele tisulare și să mobilizeze astfel macrofagele în siturile tisulare cu homeostazie dereglată (Moore, 1978).

Macrofagele sintetizează și secretă și alți produși cu rol biologic important, cum ar fi unele componente ale complementului, C2, C3, C4, ca și factorul B al căii alternative, apoi interferon, factor pirogen, diverse enzime hidrolitice, superoxizi etc.

Există în prezent numeroase date care atestă *participarea macrofagului și în arcul eferent al răspunsului imun*. Macrofagele participă alături de limfocitele T activate de antigen în răspunsurile imune mediate celular, care includ procesele de hipersensibilitate întârziată, respingerea țesuturilor și celulelor străine (inclusiv tumorale), reacțiile grefei contra gazdă, ca și imunitatea față de unele infecții virale, bacteriene sau fungice. În toate aceste răspunsuri imune celulele T angajează macrofagele, probabil prin intermediul limfokinelor.

În aceste cazuri, efectorul imunologic principal este limfocitul T sensibilizat specific la antigen, care eliberează modulatori solubili — limfokinele — cu acțiune importantă asupra macrofagului: *factorul chemotactic (CF)* care atrage macrofagele și alte leucocite; *factorul de inhibiție a migrării macrofagelor (MIF)*, care mărește aderența celulară și deci inhibă migrarea macrofagelor; *Factorul de activare (MAF) a macrofagelor*, care activează celula macrofagică, transformând-o în macrofag activat, cu capacități bacteriostatice și bacteriolitice mult intensificate și efect citostatic sau citolitic asupra celulelor țintă; *factorul de armare specifică a macrofagului (SMAF)* datorită căruia macrofagul recunoaște specific și cmoară celula țintă (celulă tumorală, celulă de alogrefă etc.).

23.4.

Rolul macrofagului în imunitatea antitumorală

Macrofagele sînt considerate astăzi ca efectori celulari importanți în răspunsul organismului gazdă față de proliferarea tumorală (Hibbs, 1978 a, b) (fig. 23.3, 23.4, 23.5).

Există numeroase dovezi experimentale care atestă participarea macrofagelor în imunitatea tumorală.



Fig. 23.3. — Fază incipientă a interacțiunii dintre un macrofag activat (jos) și o celulă tumorală țintă (sus) la microscopul electronic cu baleiaj, (Fleming și colab).



Fig. 23.4. — Contact membranar extensiv între macrofag și celula tumorală țintă la 3 ore după primul contact, la microscopul electronic cu baleiaj. (Fleming și colab.).

Old și colab. (1959) au fost primii care au demonstrat că administrarea de BCG poate face șoarecii rezistenți față de o grefă tumorală. Mai târziu, Bennett, Old și Boyse (1964) au demonstrat respingerea imunologică a celulelor tumorale de către macrofagele peritoneale. Ulterior, numeroase lucrări au confirmat acest fenomen, atât în sisteme tumorale alogene (Granger și Weiser, 1964, 1966; Den Otter și colab., 1972), cât și singenice (Evans și Alexander, 1970, 1972). Majoritatea metodelor utilizate pen-



Fig. 23.5. — Efectul citotoxic al macrofagului asupra celulei tumorale, la 6 ore după contact, la microscopul electronic cu baleiaj. (Fleming și colab.).

tru testarea respingerii tumorale mediată de macrofage se bazează pe citotoxicitate (tabelul 23.II, F. J. Lejeune, 1975).

Natura citotoxicității macrofagice pare să varieze în raport cu sistemul experimental utilizat, putând să fie specifică sau nespecifică, putând să omoare sau numai să inhibe proliferarea celulelor tumorale (Lejeune, 1975).

În anumite condiții, macrofage „normale” de la animale nestimulate pot exercita o citotoxicitate nespecifică spontană față de celulele tumorale. Evans și Alexander (1972 b) arată însă că în aceste cazuri ar fi vorba de o activare a macrofagelor prin endotoxine bacteriene, în urma unor stimulări antigenice intermitente prin diverse infecții. Hibbs și colab. (1972), Keller și colab. (1971) au arătat că macrofagele peritoneale de la animale infectate cu paraziți erau citotoxice nespecific față de celulele tumorale.

Citotoxicitatea specifică a macrofagelor a fost indusă prin hiperimunizarea animalelor cu repetate injectări de celule tumorale iradiate letal. Evans și Alexander (1970) au fost primii care au demonstrat o citotoxicitate macrofagică într-un limfom singenic, cu efect inhibitor asupra creșterii tumorale. Den Otter, Evans și Alexander (1972), Granger și Weiser (1964, 1966) au arătat că în sistemele tumorale alogenice citotoxicitatea este mai puternică, observându-se uciderea directă a celulelor tumorale de către macrofage. Această citotoxicitate specifică a macrofagelor, așa cum s-a demonstrat cu tumori singenice (Evans și Alexander, 1972 a, b) sau alogenice (Pels și Den Otter, 1973), pare să le fie conferită de limfocitele sensibilizate prin factorul specific de armare a macrofagului (SMAF) pe care-l eliberează.

La rândul lor macrofagele pot să potențeze acțiunea citotoxică a limfocitelor sensibilizate, așa cum s-a demonstrat *in vitro* (Lonai și Feldman, 1971), sau *in vivo* (Axline și Cohn, 1970), în ultimul caz însă numai cu macrofage activate prin BCG.

Mecanismele posibile ale citotoxicității macrofagelor

Participarea macrofagelor ca celule efectoare în distrugerea imunologică a celulelor tumorale, conform datelor moderne, se poate realiza pe două căi: macrofagele pot distruge celulele tumorale pe cale specifică sau nespecifică.

Macrofagele pot să manifeste citotoxicitate specifică datorită unor factori specifici, cum ar fi:

Anticorpii citofili (Granger și Weiser, 1964). Datorită receptorilor Fc de pe membrana lor celulară, macrofagele pot fixa anticorpii IgG prin fragmentul Fc al imunoglobulinei, situsul de combinare al anticorpului rămânând expus și disponibil pentru legarea ulterioară a antigenului. Prezența acestor situsuri de combinare dobândite în mod pasiv conferă celulei capacitatea de a interacționa specific cu antigenul corespunzător (de exemplu, celula tumorală) și a-l distruge (Boroș, Moraru și colab., 1981).

Factorul de armare specifică a macrofagului (SMAF) (Evans și Alexander, 1972 a, b; Keller, 1973) care este eliberat de limfocitele T sensibilizate în

TABELUL 23.II
MACROFAGELE ÎN IMUNITATEA
TUMORALĂ: METODE

Citotoxicitate

1. Pierderea aderenței
2. Inhibiția proliferării
 - a) Reducerea numărului de celule
 - b) Inhibiția incorporării timidinei- ^{3}H
3. Lezarea membranei
 - eliminarea cromului (Cr^{51})

prezența antigenului, conferă macrofagului proprietăți citotoxice specifice față de celulele tumorale.

Macrofagele pot fi activate prin mijloace adecvate pentru a omori celulele neoplazice în mod nespecific, fără existența necesară a unei sensibilizări specifice față de antigenele tumorale.

Astfel, infecții cronice cu *Toxoplasma gondii* ori BCG induc la șoareci o populație de macrofage peritoneale activate, care manifestă proprietăți tumoricide nespecifice *in vitro* față de celulele neoplazice (Hibbs, 1972, 1973, 1975). Macrofagele peritoneale normale sau macrofagele stimulate, mobilizate în cavitatea peritoneală ca răspuns la inductori ai exsudatelor peritoneale inflamatorii sterile (peptona, tioglicolat, ulei mineral), nu sînt tumoricide *in vitro*, cînd sînt puse în contact cu celulele tumorale. Aceste rezultate sugerează — așa cum arată Hibbs — că anumiți factori care ar lua naștere în cursul răspunsului imun la infecția intracelulară ar induce această capacitate tumorică nespecifică a macrofagelor activate. Alte studii (Fidler, 1975, 1978; Piessens și colab., 1975) arată că macrofagele expuse la supernatanții bogați în mediatori preparați din culturi de limfocite sensibilizate la antigeni neînrușiți cu celulele tumorale, manifestă proprietăți tumoricide. Stewart și colab. (1978) au demonstrat că toate coloniile de macrofage expuse la cantități egale de ser bogat în factori de activare macrofagică (MAF) au fost capabile să provoace liza celulelor țintă tumorale, singenice ori alogenice, printr-un mecanism nefagocitar.

Distrugerea nespecifică a celulelor neoplazice singenice ori alogenice de către macrofagele activate implică un contact strîns între celula efectoră și celula țintă, este un proces nefagocitar care pare să fie mediat de molecule derivate din sistemul vacuolar al macrofagului activat (Hibbs, 1972, 1973; Bucana și colab., 1976; Weinberg și Hibbs, 1977). Este bine stabilit faptul că activarea macrofagelor este însoțită de o puternică creștere a sistemului lizozomal atît în ceea ce privește numărul lizozomilor, cît și activitatea lor enzimatică (Hibbs, 1972, 1974; Volkman, 1976). Hibbs (1978 b) a demonstrat în contrast de fază, utilizînd markeri lizozomali, un transfer al enzimelor lizozomale din macrofagele activate în citoplasma celulelor tumorale, prin contact intim între cele două celule. Acest transfer nu se observă în cazul macrofagelor normale. Acțiunea tumorică a macrofagelor activate a fost inhibată prin: 1) hidrocortizon, un stabilizator de membrană care împiedică transferul enzimelor lizozomale în celula tumorală țintă; 2) marcarea prealabilă a sistemului vacuolar macrofagic cu albastru tripan, un inhibitor al activității enzimatice lizozomale. În ultimul caz, macrofagele activate au transferat markerii lizozomali colorați cu albastru tripan în celulele tumorale țintă, dar acestea nu au fost ucise. Toate aceste experimente demonstrează importanța sistemului lizozomal ca mecanism al citotoxicității nespecifice.

Macrofagele activateucid nespecific celulele tumorale în condiții *in vitro*, în care celule țintă normale singenice sau alogenice sînt neafectate (Hibbs, 1972, 1974; Cleveland și colab., 1974). Această capacitate tumorică selectivă l-a determinat pe Hibbs (1978 b) să preconizeze existența posibilă în organism a unui sistem neimunologic de supraveghere, cu origini îndepărtate filogenetic, bazat pe funcția macrofagelor.

Participarea macrofagelor în mecanismele de apărare ale organismului împotriva cancerului este recunoscută de puțin timp. Așa cum arată Samak și colab. (1980), numeroase date experimentale și clinice atestă însă rolul lor în boala canceroasă:

a) Macrofagele activate prin diverși agenți devin selectiv citotoxice față de celulele tumorale, dar nu și față de cele normale (Alexander și Evans, 1971; Hibbs, 1973; Keller, 1973, 1977; Piessens și colab., 1975);

b) Diverse substanțe endogene elaborate de celulele limfocitare sensibilizate au capacitatea de a activa macrofagele *in vivo* (SMAF, MAF, MIF, CF);

c) Adjuvanții bacterieni utilizați în imunoterapia cancerului (BCG, *C. parvum* etc.) sînt activatori macrofagici nespecifici puternici (Evans și Alexander, 1972 b; Zbar și colab., 1971, 1976; Halpern, 1975; Woodruff, 1975; Peters, 1978);

d) Gradul de infiltrație a unei tumori cu macrofage este invers proporțional cu potențialul ei metastatic și direct proporțional cu prognosticul (Eccles și Alexander, 1974 b; Evans, 1972);

e) Administrarea unui ser antimacrofagic la șoareci duce la o potențare a creșterii (proliferării) tumorale (Keller, 1973; Hibbs, 1975);

f) Injectarea de BCG (Snodgrass și Hanna, 1973; Zbar și colab., 1976) ori *Corynebacterium parvum* (Woodruff, 1975) direct în tumoare a indus local o infiltrație inflamatorie monocit-macrofagică, urmată de necroza tumorii.

Pe baza acestei activări nespecifice a sistemului macrofagic, ubicuitar în organism, indusă cu adjuvanții bacterieni ai imunității, BCG (Mathé, 1968, 1978; Zbar și colab., 1976), *Corynebacterium parvum* (Halpern, 1975; Todoruțiu și colab., 1982), Polidin (Chiricuță și colab., 1973, 1978) s-a preconizat și s-a aplicat în oncologie imunoterapia nespecifică cu adjuvanți, cu rezultate încurajatoare, spre deosebire de imunoterapia specifică (vaccinări seroterapie), care nu au în prezent indicație în terapia umană.

Bibliografie

- ALEXANDER P., EVANS R. — *Nature*, 1971, 232, 16.
 ASKONAS B. A., RHODES J. M. — *Nature*, 1965, 205, 470.
 AXLINE S. C., COHN Z. A. — *J. exp. Med.*, 1970, 131, 1239.
 BENNETT B., OLD L. J., BOYSE E. A. — *Transplantation*, 1964, 2, 183.
 BENNETT W. E., COHN Z. A. — *J. exp. Med.*, 1966, 123, 145.
 BOROS I., MORARU I., ONICA D., PĂUNESCU E., SULICĂ A. — Dicționar enciclopedic de imunologie, Ed. științifică și enciclopedică, București, 1981.
 BUCANA C., HOYER L. C., HOBBS B., BREESMAN S., McDANIEL M., HANNA M. G. — *Cancer Res.*, 1976, 36, 4444.
 CABILLY S., GALLILY R. — *Immunology*, 1981, 44, 347.
 CABILLY S., GALLILY R. — *Immunology*, 1981, 44, 357.
 CLEVELAND R. P., MELTZER M. S., ZBAR B. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1974, 52, 1887.
 CLINE M. J. — Biochemistry and function of monocytes and macrophages, in: Hematology, Ed. Williams W. J. & MacGraw-Hill Inc. New York, cap. 87, 1972, p. 741.
 COHN Z. A. — The structure and function of monocytes and macrophages, in: Advances in Immunology, Ed. Dixon F. J. & Kunkel H. G., Academic, New York, 1968, p. 163.
 COHN Z. A. — Lysosomes in mononuclear phagocytes, in: "Mononuclear Phagocytes", Ed. van Furth R., Blackwell, Londra, 1970, p. 50.
 DAVIES P., ALLISON A. C. — In: "Immunology of the Macrophage", Ed. Nelson D. S., Academic Press, New York, 1976, p. 427.

Metode de explorare a imunității la bolnavii canceroși

MONICA CRIȘAN

Cuprins

- 24.1. Testele de imunocompetență generală — 704
 - 24.1.1. Testele *in vivo* — 704
 - 24.1.1.1. Teste cutanate de hipersensibilitate întârziată — 705
 - 24.1.1.1.1. Teste de rapel — 705
 - 24.1.1.1.2. Teste primare — 705
 - 24.1.1.2. Testarea răspunsului inflamator local (testul Rebuck-Crowly) — 706
 - 24.1.2. Testele *in vitro* — 707
 - 24.1.2.1. Factorii celulari — 707
 - 24.1.2.1.1. Procentajele și numărul total de limfocite și monocite din singele periferic — 707
 - 24.1.2.1.2. Testarea funcției limfocitelor — stimularea limfocitelor — 713
 - 24.1.2.1.3. Funcția monocitelor (macrofagelor) — 718
 - 24.1.2.1.4. Funcția polimorfonuclearelor (PMN) — 719
 - 24.1.2.2. Factorii umorali — 721
 - 24.1.2.2.1. Nivelurile imunoglobulinelor serice — 721
 - 24.1.2.2.2. Nivelul complementului seric — 724
 - 24.1.2.2.3. Testarea complexelor imune (CI) — 724
- 24.2. Testarea imunității specifice (antitumorală) — 725
 - 24.2.1. Teste *in vivo* — teste cutanate de hipersensibilitate întârziată la antigenele tumorale — 728
 - 24.2.2. Teste *in vitro* — 728
 - 24.2.2.1. Stimularea limfocitelor — răspunsul blastogen și de proliferare — 728
 - 24.2.2.2. Producerea de limfokine — 728
 - 24.2.2.2.1. Inhibiția migrării leucocitelor (LMI) sau macrofagelor (MI) — 728
 - 24.2.2.2.2. Inhibiția aderenței leucocitelor (LAI) — 730
 - 24.2.2.2.3. Inhibiția mobilității electroforetice a macrofagelor (MEM) — 730
 - 24.2.2.3. Teste de citotoxicitate — 731
 - 24.2.2.3.1. Tehnica inhibiției coloniilor (testul Hellström) — 732
 - 24.2.2.3.2. Tehnica de microtoxicitate (Takasugi și Klein) — 733
 - 24.2.2.3.3. Tehnica de citoliză sau de eliberare a radioizotopilor (Cerottini și Brunner) — 734
 - 24.2.2.4. Teste serologice — 735
 - 24.2.2.4.1. Teste de citotoxicitate cu anticorpi și complement — 735

- 24.2.2.4.2. Testarea fixării anticorpilor specifici pe celulele tumorale — 736
 24.2.2.4.3. Decelarea antigenelor tumorale solubile (CEA, AFT etc.) — 738

Cercetările imunologice din ultimul deceniu au demonstrat existența unei corelații între prognosticul bolii canceroase și imunocompetența organismului, în sensul că imunodeficiența scade mult șansele de supraviețuire ale bolnavului. Făcând abstracție de efectul asupra evoluției însăși a tumorii maligne, deficiența imună afectează profund răspunsul organismului la infecțiile intercurrente: bacteriene, micotice sau virale, infecții care constituie frecvent o complicație redutabilă, adesea fatală, la acești bolnavi. Fără a intra în domeniul viu disputat al originii deficitului imun, indiferent dacă el este cauza sau efectul bolii canceroase, testarea imunocompetenței bolnavilor este cu atât mai necesară, cu cât toate procedeele terapeutice utilizate în cancer sînt imunodepresoare: iradierea, citostaticele și chiar actul chirurgical (inclusiv unele anestezice).

În prezent există o mare varietate de teste prin care se poate aprecia competența imună a unui organism. Ele se realizează *in vivo* sau *in vitro* și investighează diferitele compartimente ale răspunsului imun. Deoarece imunodepresia poate să intereseze inegal aceste compartimente, ideal ar fi ca investigația imunologică să cuprindă o baterie cît mai largă de teste, pentru a se putea aprecia compartimentul cel mai afectat de evoluția bolii sau de terapia aplicată. Testele de imunocompetență generală sînt enumerate în tabelul 24.I. Ele nu sînt specifice pentru cancer, ci reflectă doar capacitatea organismului de a elabora un răspuns imun adecvat. Pentru evaluarea reacției imune specifice, față de propria tumoare, se utilizează teste asemănătoare în care sînt folosite însă celulele tumorale sau antigene extrase din aceste celule.

TABELUL 24.I

METODELE DE TESTARE A IMUNOCOMPETENȚEI GENERALE

A) Teste *in vivo*:

1. Teste cutanate de hipersensibilitate întârziată:

1.1. Teste de rapel la antigene: bacteriene, virale sau fungice;

1.2. Teste primare (sensibilizare de novo): DNCB, DNFB, KLH;

2. Testarea răspunsului inflamator local (fereastra cutanată Rebeck-Crowly)

B) Teste *in vitro*:

1. Factorii celulari

1.1. Procentajele și numărul total de limfocite și monocite din singele periferic

1.1.1. Limfocite T — rozete E

1.1.2. Limfocite B — SIg, rozete EAC

1.2. Funcția limfocitelor

1.2.1. Transformarea blastică (blastogeneza)

— la mitogeni: PHA, Con A, PWM

— la aloantigene: cultura limfocitară mixtă (MLC)

1.2.2. Producerea de limfokine: MIF, LIF (LMIF), CF

1.2.3. Funcția citotoxică

1.3. Funcțiile monocitelor: chemotaxia, fagocitoza, funcția bactericidă, citotoxicitatea (ADCC), producerea de lizozim

1.4. Funcțiile granulocitelor:

1.4.1. Fagocitoza

1.4.2. Funcția bactericidă

1.4.3. Reducerea NBT

1.4.4. Chemotaxia

2. Factorii umorali:

2.1. Nivelul imunoglobulinelor serie: IgG, IgA, IgM (evidențierea componentelor monoclonale)

2.2. Nivelul complementului serie: CH₅₀ și componentele complementului

2.3. Testarea complexelor imune:

2.3.1. Precipitarea cu polietilenglicol

2.3.2. Tehnicile radioimune

2.3.3. Testarea cu celule Raji

24.1.

Testele de imunocompetență generală

Majoritatea testelor de imunocompetență generală s-au dovedit eficiente în aprecierea gradului de depresie imună la bolnavii canceroși. Există numeroase studii care corelează anumite teste cu stadiul bolii, efectele terapiei, evoluția sau prognosticul bolii. Până în prezent există însă foarte puține studii complexe în care să se facă corelații multiple, multivalente între parametrii imunologici și cei clinici.

Au fost constatate diferențe mari între diferitele localizări și tipuri de tumori. În plus, există diferențe individuale chiar în cadrul aceleiași forme și localizări ale cancerului. În general, răspunsurile imune sînt normale sau aproape normale în formele localizate și deprimare în stadiile avansate, metastatice, ale cancerelor mamare, melanoamelor și sarcoamelor (Herberman, 1974, 1979; Chiricuță și colab., 1973—1980; Hersh și colab., 1976; Crișan și colab., 1975—1981; Weese și colab., 1977; Simu 1978; Wanebo 1979 și alții). Răspunsurile imune sînt frecvent diminuate încă din primele stadii evolutive în alte localizări ale cancerului: viscerale (pulmonare, digestive), ale capului și gâtului sau în boala Hodgkin.

Imunocompetența generală poate fi testată *in vivo* pentru aprecierea globală a capacității imune și *in vitro* pentru investigarea diferitelor compartimente ale răspunsului imun (tabelul 24.I).

24.1.1.

Testele *in vivo*

Au fost și sînt larg utilizate în clinica oncologică, deoarece sînt simple, ușor de executat și nu necesită aparatură, reactivi costisitori sau înaltă tehnicitate. Ele evidențiază hipersensibilitatea de tip întârziat (mediată celular) sau răspunsul inflamator local la iritarea tegumentului.

24.1.1.1.

Testele cutanate de hipersensibilitate întârziată

Aceste teste investighează răspunsul imun mediat celular prin teste de rapel sau prin teste primare.

24.1.1.1.1.

Teste de rapel

În principiu, limfocitele sensibilizate anterior la un antigen reacționează specific la readministrarea intradermică a aceluiași antigen, dând un răspuns imun local caracterizat prin eritem cu indurație, însoțit de o infiltrație limfomonocitară. Reacția imună apare târziu, la 10—24 de ore după administrarea antigenului și atinge maximum de 48—72 de ore, spre deosebire de reacția de hipersensibilitate imediată, dată de anticorpi, care apare rapid.

În testele de rapel sînt folosite antigene ale agenților infecțioși cu care bolnavul a venit în contact anterior (în antecedente):

— antigene bacteriene: tuberculină, PPD (derivatul proteic purificat de tuberculină), antigene streptococice (varidază sau streptokinază/streptodornază), stafilococice, de *E. coli* etc.;

— antigene virale — ale virusului rujeolei, urlian etc.;

— antigene micotice: candidină, histoplasmină, dermatofitină.

După administrarea intradermică a unei soluții care conține antigenul testat (0,1 ml) se citește reacția la 24, 48 și 72 de ore. Se notează ca pozitivă (+) atunci cînd eritemul plus indurația depășesc diametrul de 5 mm, la 48—72 de ore, sau intens pozitivă (++) cînd depășesc 10 mm. În mod normal, 90—95% din persoanele care au suferit infecții anterioare sau au fost vaccinate cu vaccinuri vii (de exemplu cu BCG) prezintă reacții pozitive. În țara noastră este larg utilizată reacția la PPD, dar în țările în care vaccinarea cu BCG nu este obligatorie este mai puțin folosită.

Testele de rapel au o valoare limitată din două motive principale:

a) reacțiile negative se pot datora lipsei sensibilizării anterioare, adică faptului că bolnavul nu a suferit infecții cu agenții care posedă antigenul corespunzător. În acest caz testul negativ nu are nici o semnificație în imunocompetență, neoglîndind o deficiență a imunității celulare;

b) reacțiile pozitive pot să nu reflecte fidel capacitatea actuală de a edifica un răspuns imun, deoarece sensibilizarea la antigenele corespunzătoare a putut să aibă loc cu mult timp înainte de apariția cancerului.

Din aceste motive se utilizează testele primare, de sensibilizare *de novo*, care furnizează rezultate mult mai fidele privind capacitatea imună actuală a bolnavilor cu cancer.

24.1.1.1.2.

Teste primare

În aceste teste se obține o sensibilizare primară la unele substanțe chimice: DNCB (dinitro-clorbenzen), NDFB (dinitro-fluorbenzen) sau, mai rar, la KLH (Keyhole Limpet Haemocyanin). Aceste substanțe, dizolvate în solvenți organici, dacă se aplică pe piele se leagă covalent de membrana celulelor, modificînd

du-le antigenicitatea. Ulterior, la o nouă aplicare a aceleiași substanțe, apare o reacție de hipersensibilitate întârziată.

Practic, pentru sensibilizare se utilizează de obicei o soluție concentrată de DNCB (10 mg/ml) în acetonă, care se aplică pe pielea unui antebraț (0,2 ml). După 10—14 zile se testează reacția de hipersensibilitate întârziată pe antebrațul opus, aplicându-se aceeași cantitate (0,2 ml) de soluție diluată de antigen (50—500 μ g/ml). Citirea și interpretarea rezultatelor se face ca la reacțiile de rapel.

Deoarece la persoanele normale DNCB poate să provoace reacții locale foarte severe, se preconizează ca testarea primară să se facă numai în cazuri bine selectate, cu imuno-deficiențe grave sau, eventual, la bolnavii care au avut reacții negative la o baterie largă de antigene de rapel.

În general s-a constatat că la bolnavii cu cancer există o corelație între răspunsul la testele cutanate de hipersensibilitate întârziată și stadiul și prognosticul bolii (Eilber și colab., 1970, 1975; Herberman, 1974; Pinski și colab., 1976; Hersh și colab., 1976; Wanebo, 1979). În unele localizări ale cancerului, timpul de supraviețuire la bolnavii cu teste pozitive este semnificativ mai lung decât la cei cu teste negative: melanoame, cancere de colon sau ale capului și gâtului. La ultimii, aceste teste au o semnificație prognostică și anume chiar dacă prezintă metastaze ganglionare bolnavii cu reacții pozitive fac recidive și metastaze mult mai rar și mai târziu decât bolnavii fără metastaze ganglionare, dar cu reacții negative (Wanebo, 1979).

Unii agenți terapeutici pot să negativeze reacțiile de hipersensibilitate cutanată: glucocorticoizii, iradierea, unele citostatice (ciclofosfamida, methotrexatul) sau antibiotice (rifampin), intervențiile chirurgicale și anestezicele (ultimele două pe o perioadă mai scurtă de timp). Din acest motiv, testarea trebuie să se facă înaintea oricărei terapii. În plus, scăderea intensității reacțiilor cutanate se poate datora unei boli intercurrente: infecții acute virale (pojar, varicelă, mononucleoză infecțioasă, gripă), infecții bacteriene cronice (tuberculoză, lepră, bruceloză, infecții streptococice, pneumonie) sau micotice. Deprimarea reacțiilor apare după unele vaccinări (antivariolică), în diabet zaharat, malnutriție, uremie, arsuri.

24.1.1.2.

Testarea răspunsului inflamator local

Evaluarea răspunsului inflamator local se poate face prin testul ferestrei cutanate sau testul Rebuck-Crowly, care constă în iritarea tegumentului antebrațului, mecanică sau cu substanțe iritante (cantaridă, ulei de croton), peste care se fixează o lamelă de microscop. Lamela se ridică la 6, 24 și 48 de ore și se citește formula citologică a exsudatului inflamator, adică a celulelor care aderă de lamelă. În mod normal, după 24 și 48 de ore de la iritarea tegumentului în exsudat predomină macrofagele (aproximativ 60%, respectiv 90% din totalul celulelor). În cazul unui răspuns inflamator slab, capacitatea de mobilizare a macrofagelor la locul inflamației este diminuată și apare o scădere a proporției acestor celule în exsudatul inflamator.

În general s-a constatat o scădere a mobilizării macrofagelor la persoanele cu stadii avansate ale cancerului (Chiricuță și colab., 1975; Roth și colab., 1975; Simu, 1978).

Testele *in vitro*

Spre deosebire de testele *in vivo*, care furnizează rezultate brute, globale ale răspunsului imun, testele *in vitro* permit aprecierea mai detaliată cantitativă și calitativă, funcțională a diferitelor populații celulare angajate în răspunsul imun. Aceste teste permit observarea unor deficiențe imune, insesizabile la reacțiile cutanate de hipersensibilitate întârziată, deficiențe în diferite compartimente ale răspunsului imun celular sau umoral.

24.1.2.1.

Factorii celulari

24.1.2.1.1.

Procentajele și numărul total de limfocite și monocite din sângele periferic

În numeroase lucrări a fost semnalat faptul că scăderea numărului total de limfocite din sângele periferic și în special al procentajului și numărului total de limfocite T reprezintă un indicator sensibil al deprimării imunității mediate celular, imunitate care are o deosebită importanță în evoluția cancerului. S-a constatat că la bolnavii cu niveluri normale ale limfocitelor T supraviețuirea este mult mai lungă în comparație cu cei cu niveluri scăzute, frecvența recidivelor și a metastazelor este mult mai mică, răspunsul la terapie este mai bun, iar timpul de la rezecția tumorilor până la apariția metastazelor este semnificativ mai lung (Fudenberg și colab., 1975; Herberman, 1974; Papatestas și colab., 1976; Evans și colab., 1977; Chiricuță și colab., 1981; Crișan și colab. 1975—1981; Wanebo, 1979 și alții).

Aprecierea numărului total de limfocite din sângele periferic se face pe baza numărului de leucocite și tabloului sangvin:

$$\text{Nr. limfocite/mm}^3 (\mu\text{l}) = \frac{\% \text{ limfocite în tabloul sangvin}}{\text{nr. leucocite/mm}^3} \times 100$$

În mod similar se calculează numărul total de monocite.

Aprecierea diferitelor populații limfocitare, adică a limfocitelor T și B și „nule” (sau non-T-non-B) se face prin evidențierea unor caractere particulare specifice ale acestor celule denumite markeri (tabelul 24. II.). Din aceștia, cei

TABELUL 24. II

**MARKERII MONONUCLEARELOR SANGVINE UMANE,
LIMFOCITE T, B, NON-T-NON-B, MONOCITE**

Limfocite T

1. Formează rozete spontane cu eritrocitele de oaie — rozete E
2. Răspund prin blastogeneză, proliferare ± eliberare de limfokine la stimulare cu:
 - mitogeni solubili: PHA, Con A
 - antigene la care au fost sensibilizate
 - celule alogene (blastogeneză, proliferare)
3. Au antigenul de membrană HTLA („Human T-Lymphocyte Antigen“)
4. Posedă receptori pentru Fc al imunoglobulinelor IgG, IgM (de afinitate mică) — formează rozete EA
5. Posedă antigene de diferențiere (T1, T3, T4, T5/8, T6, T10, T11 sau Leu-1, 2, 3, 4, 5 sau 7 în funcție de gradul de maturare a celulei).

Linfocite B

1. Au imunoglobuline de suprafață de origine endogenă (SIg), demonstrabile prin fluorescență directă
2. Posedă receptori pentru Fc al IgG (afinitate mică) — formează rozete EA
3. Posedă receptori pentru componentele activate ale complementului (C3b, C4b, C3d) — formează rozete EAC
4. Au antigenul de membrană HBLA („Human B-Lymphocyte Antigen“)
5. Au antigenul Ia-like (HLA-DR)
6. Formează rozete spontane cu hematii de șoarece — (o parte din limfocitele B) — rozete MRBC („Mouse Red Blood Cells“)
7. Posedă receptori pentru virusul Epstein-Barr
8. Posedă antigene de diferențiere (B1, B2, BA-1, BA-3, Leu 10).

Linfocitele non-B-non-T („nule“)

1. Nu posedă markerii caracteristici T sau B- nu formează rozete E respectiv nu au SIg
2. Posedă receptori de mare afinitate pentru Fc al IgG (formează rozete cu hematii umane Rh pozitive acoperite de anticorpi anti-Rh, anticorpi anti-D Ripley)
3. Posedă receptori pentru complement (C3b) evidențiabile prin rozete EAC
4. Nu fagocitează.

Monocite

1. Fagocitează particule inerte (latex, zimosan, coloranți) sau vii (bacterii, fungi)
2. Posedă receptori pentru Fc al IgG de afinitate mare — formează rozete EA (hematii umane Rh pozitive acoperite de anticorpi anti-D Ripley)
3. Posedă receptori pentru complement (C3b) — formează rozete EAC
4. Au antigene Ia-like (HLA-DR)
5. Posedă receptori specifici pentru limfokine (MIF)
6. Răspund la factorii chemotactici

mai utilizați sînt: pentru limfocitele T — rozetele E, pentru limfocitele B — imunoglobulina de suprafață (SIg) și rozetele EAC, iar pentru monocite — capacitatea fagocitantă. Testarea acestor markeri se face pe celule vii, pe preparate limfo-monocitare lipsite de hematii și granulocite. În acest scop se recoltează sînge periferic (pe heparină) și se izolează limfocitele și monocitele prin centrifugare în gradient de densitate (fig. 24.1). Singele se dispune în strat pe un amestec de separare de o anumită densitate (în România este folosit amestecul Ficoll + Odiston cu densitatea 1,077, sau Sepcel). După centrifugare, la

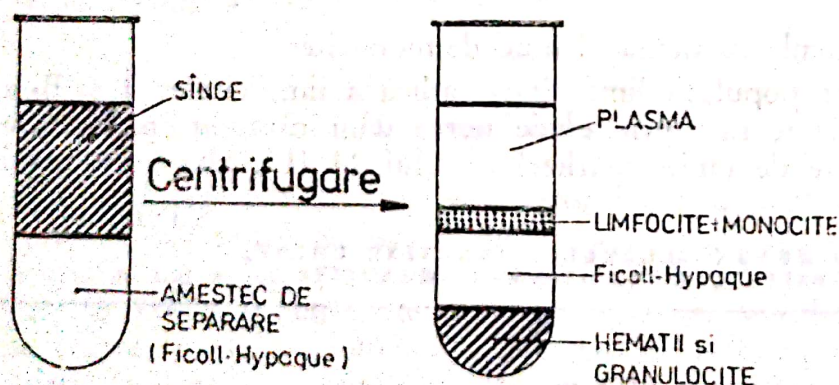


Fig. 24.1. — Izolarea mononuclearelor din singele periferic (limfocite + monocite) prin procedeul de centrifugare în gradient de densitate. Amestecul de separare constă dintr-o soluție de Ficoll-Hypaque (sau Ficoll-Odiston) cu densitatea de 1,077 g/cm³.

interfața dintre plasmă și amestecul de separare, apare un strat format aproape exclusiv din limfocite și monocite (fig. 24.1). Se recoltează cu atenție acest strat celular și se testează apoi proporția (%) limfocitelor T, B și monocitelor.

Aprecierea procentajului și numărului total de limfocite T și B în cancer urmărește două scopuri principale:

- a) semnificația prognostică a limfocitelor T, în special în cancerurile solide;
- b) decelarea naturii celulelor proliferate malign în leucemii.

24.1.2.1.1.1.

Linfocitele T — rozete E

Linfocitele T umane vii formează spontan rozete dacă sînt puse în contact cu eritrocitele de oaie — rozete E (fig. 24.2.). Rozeta este formată dintr-un limfocit central înconjurat de minimum 3 eritrocite. În condiții optime de rozetare — atunci cînd contactul dintre cele 2 tipuri de celule are loc la 4°C timp de 16—20 de ore — proporția rozetelor E reprezintă proporția totală a limfocitelor T din suspensia celulară. În mod normal, în sîngele periferic 65—75% din limfocite sînt de natură T ($68 \pm 2\%$) potrivit Comisiei Naționale de Standardizare, 1981).

Numeroși autori au constatat că proporția limfocitelor T sangvine este semnificativ scăzută la bolnavii cu forme avansate de cancer mamar, melanome și sarcoame (chiar dacă sînt operabile) și uneori în stadiile inițiale, localizate, ale cancerelor pulmonare sau ale capului și gâtului (Herberman, 1974; Crișan și colab., 1975—1982; Wybran, 1979; Wanebo, 1979 etc.). Scăderi foarte marcate ale rozetelor E au fost constatate și în unele boli limfo-proliferative maligne: boala Hodgkin și mai ales leucemia limfatică cronică (de tip B). Procedeele terapeutice — în special roentgenterapia și citostaticele — în general deprimă puternic nivelul limfocitelor T. Pentru unii autori prezența unor niveluri scăzute ale rozetelor E în stadiile incipiente ale cancerului indică un prognostic grav.

În ultimii ani s-a constatat că prin utilizarea unor procedee mai rafinate de rozetare suboptimală se pot evidenția subpopulații de limfocite T, care furnizează informații mai fidele în testarea imunocompetenței. În literatură aceste subpopulații apar sub diferite denumiri: rozete active sau limfocite T formatoare de rozete active — T_{Ea} — (rozetare la 37°C, timp de o oră în prezența a 50% ser fetal de vițel) și rozete de mare afinitate — T_{MA} — (incubare tot o oră, dar la 29°C, în prezența serului fetal de vițel 40%). În mod normal în sînge proporția limfocitelor T formatoare de rozete active este de 20—30%

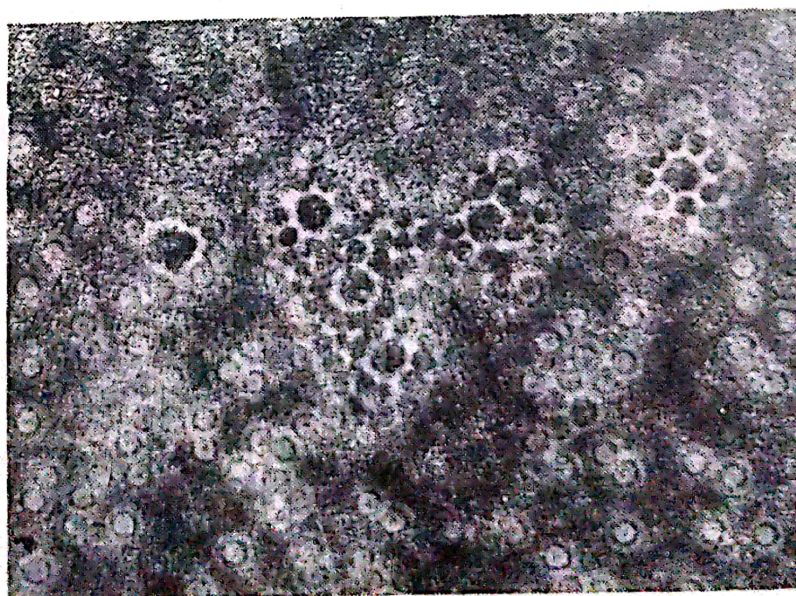


Fig. 24.2. — Aspectul rozetelor E privitye la microscop în contrast de fază (mărire 400×). În centrul rozetei se observă limfocitul T (mai întunecat), iar în jur hematiile de oaie.

($27 \pm 6,5\%$ — Wybran, 1973, 1976, 1979), iar a celor de mare afinitate $54 \pm 5\%$ (West și colab., 1976). Se pare că ambele tipuri de rozete evidențiază o subpopulație de limfocite T cu funcții mai ales de celule efectoare ale imunității celulare.

Testarea limfocitelor T formatoare de rozete E active (T_{Ea}) se pare că prezintă importanță diagnostică și prognostică. În general, s-a constatat scăderea lor la 65% din bolnavii cu cancer (localizat sau cu metastaze). Scăderea T_{Ea} este mai frecventă în anumite localizări, de exemplu în cancere pulmonare (90%) și în stadiile avansate ale bolii: în recidive locale (60%) sau în metastaze la distanță (70%). Scăderea precedă de obicei cu 3—6 săptămâni apariția clinică a metastazelor (Wybran și Fudenberg, 1973; 1976; Crișan și colab., 1975, 1979; Chiricuță și colab., 1981). S-a demonstrat că urmărirea dinamică a T_{Ea} și/sau T_{MA} are importanță în prognosticul unor forme de cancer (melanoame, cancere mamare) și în aprecierea efectului imunoterapiei cu BCG, timozină sau levamisol (Wybran și Fudenberg, 1976, West și colab., 1977, Crișan și colab., 1975, 1981).

Proporția și numărul total de limfocite T pot fi evaluate și prin imuno-fluorescență, folosindu-se anticorpi anti-HTLA („Human T-Lymphocyte Antigen”) care pun în evidență un antigen specific pentru limfocitele T umane.

Subpopulațiile funcționale de limfocite T se pot aprecia prin două metode:

a) Pe baza naturii receptorilor Fc de pe limfocitul T (receptori pentru Fc al imunoglobulinelor). Limfocitele T ajutoare, helper (T_H) posedă receptori pentru Fc al imunoglobulinei M (Fc μ), iar limfocitele T citotoxice și supresoare (T_c și T_s) au receptori Fc pentru imunoglobulina G (Fc γ). Punerea în evidență a acestor receptori se face pe populații pure de limfocite T (lipsite de limfocite B și monocite). Izolarea populațiilor purificate de limfocite T se obține prin rozetare E, urmată de separarea celulelor rozetate pe gradient de densitate (Ficoll-Odiston). Limfocitele T astfel izolate sînt supuse apoi rozetării EA, pentru a se evidenția receptorii Fc (fig. 24.3.). La acest tip de rozetare se folosesc eritrocite de bou (E)

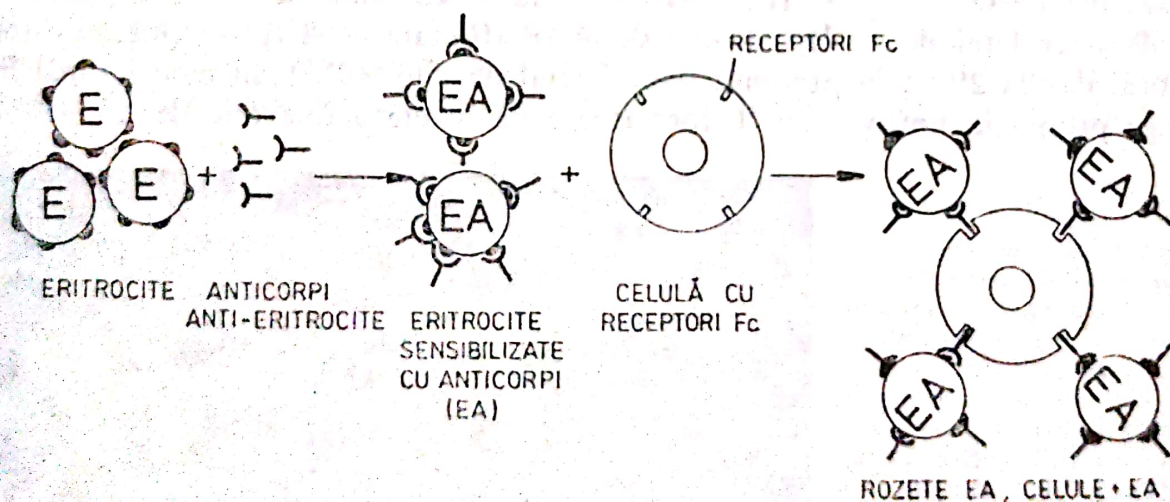


Fig. 24.3. — Decelarea receptorilor pentru Fc de pe limfocitele T sau B prin metoda rozetării EA (eritrocite + anticorpi antieritrocitari).

acoperite de anticorpi antieritrocitari (A). Pentru evidențierea receptorilor Fc μ , anticorpi antieritrocitari utilizați pentru EA sînt de tip IgM, iar receptorii Fc γ de tip IgG.

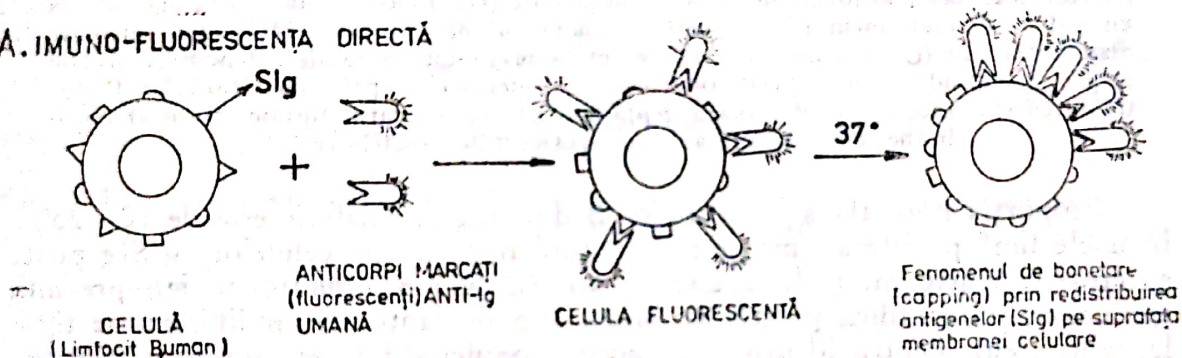
b) Pe baza antigenelor de diferențiere ale limfocitelor T, cu ajutorul anticorpilor monoclonali marcați fluorescent. De exemplu: anticorpul monoclonal OKT4 pun în evidență limfocitele $T_H(T_4^+)$ iar anticorpul OKT5 și OKT8 limfocitele citotoxice/supresoare (T_c și T_s , T_5 sau 8^+).

Markerul cel mai caracteristic pentru limfocitele B este prezența pe suprafața membranei celulare a imunoglobulinelor care sînt legate strîns de membrană, SIg sau mIg. Aceste imunoglobuline sînt sintetizate de limfocitele B, deci au o origine endogenă. Aprecierea proporției limfocitelor B se face prin evidențierea proporției limfocitelor cu SIg, realizată prin imunofluorescență directă pe celule vii (fig. 24.4).

Tehnica de imunofluorescență se bazează pe utilizarea anticorpilor marcați fluorescent, adică cuplați cu o substanță fluorescentă sau fluorocrom. Substanțele fluorescente (fluoresceina, rodamina) au proprietatea de a absorbi anumite lungimi de undă ale luminii și de a emite alte lungimi de undă, de culori vii (fluoresceina — verde, rodamina — roșie). Prin conjugarea lor cu fluorocromi, anticorpul nu-și pierde activitatea imună. El reacționează cu antigenele specifice, iar complexul antigen-anticorp-fluorocrom poate fi decelat la microscopie specială, de fluorescență, iluminate cu ultraviolete (UV).

În evidențierea SIg de pe limfocitele B se utilizează antiseruri polivalente, care conțin anticorpi față de toate clasele de imunoglobuline umane (IgG, IgA,

A. IMUNO-FLUORESCENȚĂ DIRECTĂ



B. IMUNO-FLUORESCENȚĂ INDIRECTĂ

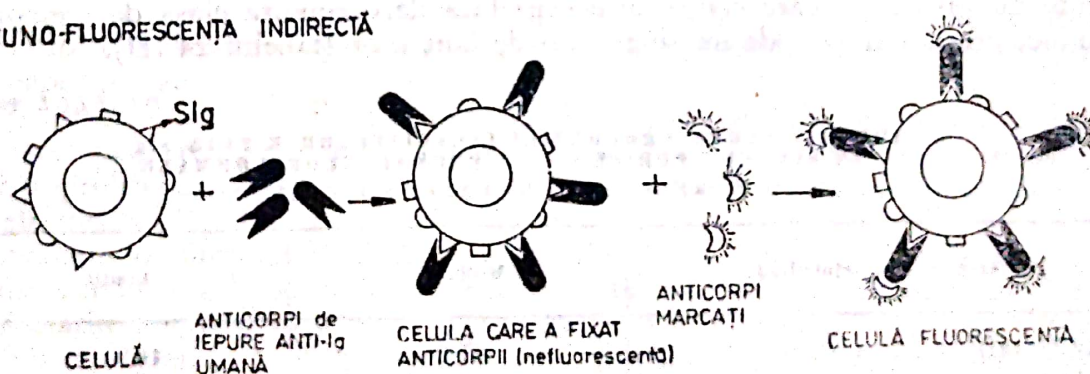


Fig. 24.4. — Reprezentarea schematică a principiului imuno-fluorescenței directe (A) și indirecte (B). Imuno-fluorescența directă este metoda de elecție pentru evidențierea imunoglobulinelor de pe suprafața limfocitelor B (SIg). Imuno-fluorescența indirectă este utilizată pentru evidențierea anticorpilor antitumorali.

IgM, IgD și IgE). Aceste antiseruri, conjugate în prealabil cu fluorocromi, se amestecă cu suspensia de limfocite vii (incubare 20—30 de minute la 4°C sau 20°C). După spălarea celulelor (pentru îndepărtarea anticorpilor fluorescenți nefixați) se citește proporția celulelor fluorescente, în UV, la microscopie de



fluorescență specială (cu epiiluminare, cu iluminare incidentă). Fluorescența celulelor apare sub formă de: inel, petice sau redistribuită la un pol al celulei: cu aspect de bonetă sau pată foarte luminoasă (atunci când anticorpii fluorescenți sînt endocitați) (fig. 24.5).

Menționăm faptul că și alte tipuri de celule (limfocite nule, monocite, limfocite T) pot să prezinte SIg, dar de origine exogenă (din ser), SIg citofilă (datorită faptului că sînt înzestrate cu receptori pentru Fc ale IgG). Pentru o apreciere corectă a proporției limfocitelor B este deci necesară demonstrarea originii endogene a SIg, care se poate realiza prin diverse metode: tratarea celulelor cu tamponi acide, proteoliză limitată, incubări la 37°C etc., urmate de spălări și de cultivarea celulelor pentru ca acestea să poată să resintetizeze SIg. Prin aceste metode, proporția de celule fluorescente reflectă numărul real de limfocite B.



Fig. 24.5. — Modul de distribuție a fluorescenței pe limfocitele B. Fluorescență difuză, mai marcată pericelular sub formă de inel (A). Fluorescență dispusă în grămezi, care microscopic apar sub formă de petice fluorescente (B). Fluorescența se concentrează la un pol al celulei, formînd o bonetă — fenomenul de bonetare (capping) — prin redistribuția SIg (C). Fluorescența apare într-o prelungire a celulei, denumită uropod (aspect de oglindă cu mine) (D). Interiorizarea fluorescenței prin endocitoză (E). Redistribuirea fluorescenței se datorează deplasării SIg prin stratul lipidic dublu al membranei celulare sub acțiunea anticorpilor anti-Ig (B-E).

Proporția normală a limfocitelor B din sângele periferic este de 10—25%. În unele limfoproliferări maligne de natură B proporția celulelor cu SIg poate să crească foarte mult. În aceste cazuri, celulele proliferate malign prezintă monoclonalitate (adică posedă un singur tip de lanț ușor, indiferent de tipul lanțului greu). Pentru identificarea acestor celule se folosesc antiseruri fluorescente monovalente, care conțin anticorpi față de o singură clasă de imunoglobuline, precum și față de un singur tip de lanț ușor (tabelul 24.III).

TABELUL 24.III

IDENTIFICAREA PROPORȚIEI LIMFOCITELOR B PRIN SIg,
ÎN SÎNGELE PERIFERIC AL PERSOANELOR NORMALE
(WHO WORKSHOP ON HUMAN T & B CELLS 1974)

Clasa de imunoglobuline	Media %	Limite
SIg (total)	21,0	16—28
IgG	7,1	4—12,7
IgA	2,2	1—4,3
IgM*	8,9	6,7—13
IgD*	6,2	5,2—8,2
IgE	f. rare	
Lanțuri ușoare		
× (kappa)	13,9	10—18,6
λ (lambda)	6,8	5—9,3

* IgD și IgM apar în mod frecvent concomitent pe aceeași celulă.

24.1.2.1.1.2.2. Rozetele EAC

Proporția limfocitelor B se poate evalua și printr-un procedeu de rozetare asemănător cu cel al rozetării E pentru limfocitele T. Deosebirea constă în faptul că eritrocitele (E) trebuie să fie în prealabil tratate cu anticorpi anti-eritrocitari (A) și cu complement (C) (fig. 24.6). În principiu, suspensia de limfocite vii este amestecată cu aceste eritrocite prelucrate — EAC — și după o incubare scurtă (15—20 de minute la 37°C) se citește la microscop (în contrast de fază) proporția celulelor formatoare de rozete EAC. Rozetarea se face datorită faptului că marea majoritate a limfocitelor B sînt înzestrate cu receptori pentru complement (componentele activate ale complementului: C3b, C3d, C4b).

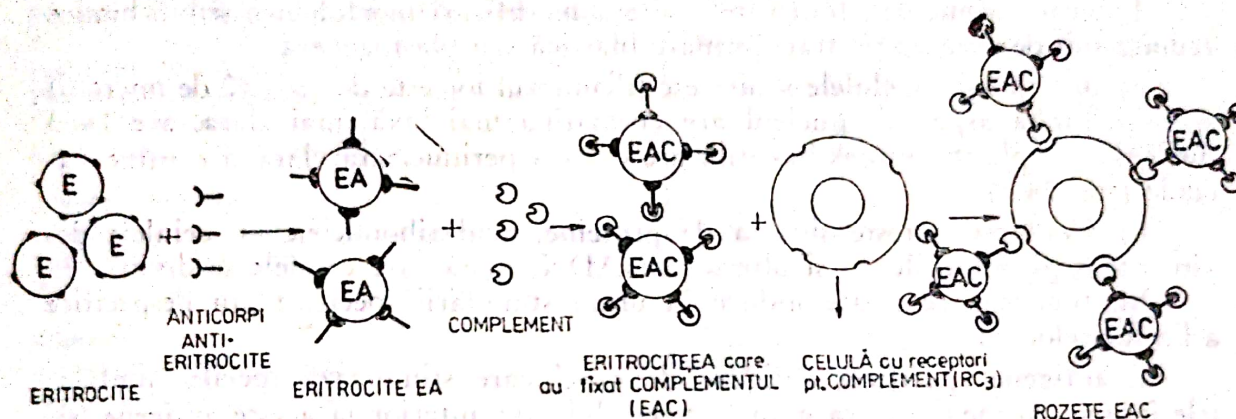


Fig. 24.6. — Schema decelării receptorilor pentru complement (RC3) de pe suprafața limfocitelor B prin metoda rozetării EAC.

Proporțiile normale obținute prin această metodă sînt ceva mai mici decît cele ale metodei descrisă anterior (10—19%). Deși rezultatele variază mult în funcție de detaliile tehnice (sursa eritrocitelor — oaie sau bou, natura anticorpilor — IgG sau IgM, sursa de complement — uman sau murin), testul este larg utilizat în laboratoarele imunologice, datorită faptului că nu necesită microscopie speciale.

În general, la bolnavii cu cancere solide proporțiile limfocitelor B sînt normale sau ușor crescute. Modificări remarcabile au fost constatate la bolnavii cu limfoproliferări maligne; în leucemia limfatică cronică (de tip B), de exemplu, ele cresc la 60% sau chiar 80%. În limfoamele maligne apar frecvent creșteri marcate ale limfocitelor B în organele afectate (ganglioni, măduvă, splină), dar mai rar în sângele periferic. În general, în limfoproliferările maligne evidențierea markerilor limfocitari T și B este utilizată atît în scop diagnostic, cît și prognostic, deoarece precizează însăși natura celulelor proliferate malign. La acești bolnavi se utilizează în ultimii ani și alte metode imunologice mai complicate (Crișan, 1982).

24.1.2.1.2.

Testarea funcției limfocitelor — stimularea limfocitelor

Există cazuri în care limfocitele sînt numeric normale, dar au alterări ale funcției lor, alterări care determină scăderea imunocompetenței organismului. Pentru a se aprecia funcția limfocitelor, se urmărește răspunsul la stimulare.

În urma stimulării specifice, limfocitele se activează, se transformă blastic, proliferază și se diferențiază. Aprecierea activării se poate realiza deci prin evidențierea blastogenezei și proliferării limfocitelor, prin producerea de limfokine sau prin capacitatea de a distruge celulele străine (citotoxicitate). În general, testele de stimulare *in vitro* utilizează agenți stimulatori specifici (antigene de rapel sau sensibilizarea de novo *in vitro*) sau nespecfici (substanțe mitogene).

24.1.2.1.2.1.

Transformarea blastică și proliferarea limfocitelor

În urma stimulării, limfocitele suferă modificări morfologice și biochimice reunite sub denumirea de transformare blastică sau blastogeneză.

a) *Morfologic*. Celulele se măresc (diametrul lor este de 15—30 de microni) și își schimbă aspectul: nucleul are cromatina mai laxă, mai clară, are 1—3 nucleoli, citoplasma intens bazofilă are o zonă perinucleară clară și conține vacuole (fig. 24.7).

b) *Biochimic*: crește sinteza de proteine, acid ribonucleic — celulele devin intens pironinofile — și ulterior de ADN, după care celulele se divid.

Blastogeneza se poate induce în urma stimulării specifice sau nespecifice a limfocitelor cu:

a. antigene specifice, antigene de rapel care stimulează specific limfocitele imune, cu memorie, care au fost sensibilizate anterior la aceste antigene (similare cu cele utilizate în testele cutanate de hipersensibilitate întârziată);

b. substanțe mitogene nespecifice, în special fitomitogenele (proteine extrase din plante), care stimulează aproape întreaga populație de limfocite T sau B. Ele activează limfocitele prin legarea lor de niște receptori pentru mitogeni

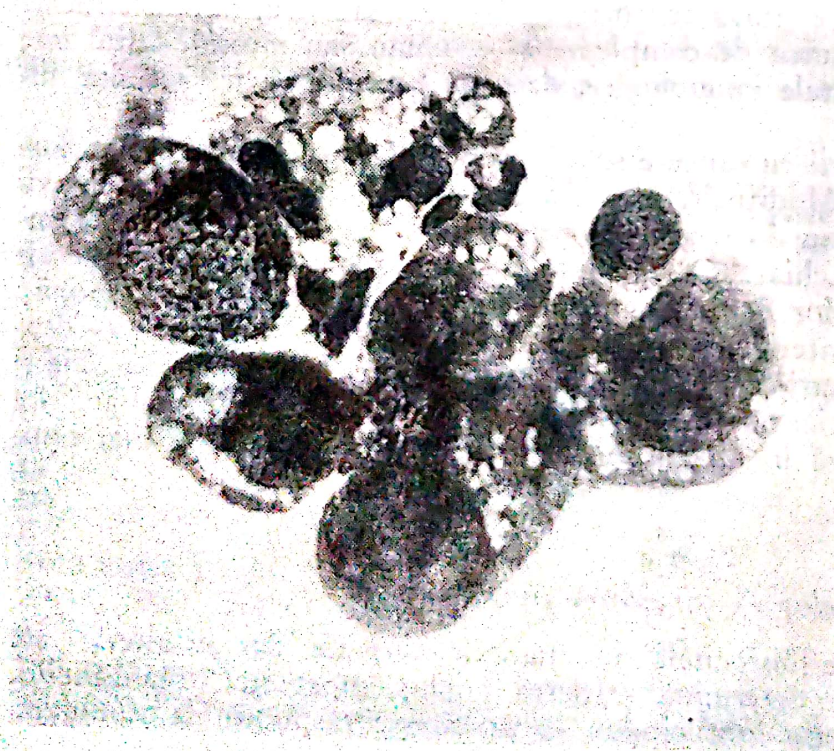


Fig. 24.7. — Aspectul microscopic al limfocitelor transformate blastic sub efectul fitohemaglutininei (frotiu). Citoplasma bazofilă conține numeroase vacuole. În dreapta sus se observă un limfocit mic.

prezenți fie pe limfocitele T, fie pe limfocitele B, fie pe ambele populații (tabelul 24.IV);

TABELUL 24.IV

SELECTIVITATEA SUBSTANTELOR MITOGENE PENTRU LIMFOCITELE T SAU B.
DIFERENȚELE DINTRE LIMFOCITELE UMANE ȘI MURINE
(MODIFICAT DUPĂ STITES ȘI DUPĂ DOUGLAS ÎN „BASIC & CLINICAL IMMUNOLOGY”,
1980, CAP. 26 respectiv 9)

Substanțe mitogene	Prescurtare	Limfocite			
		Umane		De șoarece	
		T	B	T	B
<i>Filomitogene (lectine)</i>					
Fitohemaglutinina (din fasolea <i>Phaseolus vulgaris</i>)	PHA	+	?	+	—
Concanavalina A (fasolea <i>Canavalia ensiformis</i>)	ConA	+	—	+	—
Pokeweed mitogen (<i>Phytolacca americana</i>)	PWM	+	+	+	+
Ceară de albine		+	—	n.s.	
PHA, ConA, PWM insolubile		+	+	+	+
<i>Produce bacteriene</i>					
Lipopolizaharidul (din bact. Gram-negative)	LPS	—	—	—	+
Tuberculina agregată		n.s.		—	+
Proteina A din <i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan I)	SpA	?	+		
<i>Diverse</i>					
Globulina antitimocitară	ATG	+	—	+	—
Seruri antiimunoglobuline		—	+	—	?
Dextran polivinil-pirolidonă		n.s.		—	+
Tripsina		n.s.		—	+

* PHA și ConA stimulează fiecare preferențial anumite subpopulații de limfocite T.
n.s. = nestudiat
? = nu se știe precis

c. celule alogene, adică celulele care posedă antigene de histocompatibilitate străine (HLA-DR incompatibile) care stimulează de novo *in vitro* limfocitele T.

Deoarece numărul limfocitelor transformate blastice după stimularea antigenică specifică este foarte mic (sub 1%), testarea limfocitelor se face prin ultimele două procedee: blastogeneza la mitogeni (PHA, ConA, PWM) și la celule alogene, blastogeneza în cultură limfocitară mixtă.

24.1.2.1.2.1.1.

Transformarea blastică la stimularea cu mitogeni

Metoda de evidențiere a blastogenezei este relativ simplă: limfocitele izolate din sângele periferic se cultivă în eprubete sau camere de cultură (în concentrații de $1 \cdot 10^6$ celule/ml) în mediile de cultură uzuale, suplimentate cu 10—20% ser (autolog, alogen AB sau ser fetal de vițel) în prezența diferitelor concentrații de mitogen (PHA, ConA etc.), la 37°C într-un termostat (incubator) în care aerul este îmbogățit cu bioxid de carbon (CO₂ 5% în aer). De obicei, după 72 de ore de cultivare efectul mitogenului asupra sintezei aci-

zilor nucleici este maxim (ADN). Proportia limfocitelor care au suferit transformarea blastica se poate aprecia prin 2 tehnici:

a) morfologic, la microscop, după fixarea și colorarea limfocitelor (fig. 24.7), tehnica în mare măsură abandonată datorită variabilității mari a rezultatelor obținute, variabilitate dată de subiectivism, de interpretarea uneori dificilă a blastogenezei etc.;

b) prin măsurarea cantitativă a sintezei ADN cu ajutorul unui precursor al ADN marcat radioactiv, timidina tritiată (H^3 -timidină). Această metodă, universal acceptată, se realizează în două etape. Prima etapă este identică cu cea descrisă anterior. După 72 de ore de cultivare în prezența mitogenului, limfocitele sînt incubate din nou timp de 18—20 de ore cu H^3 -timidină, timp în care timidina tritiată este incorporată în ADN limfocitar nou-sintetizat (fig. 24.8). După spălare (pentru îndepărtarea timidinei neincorporate), se

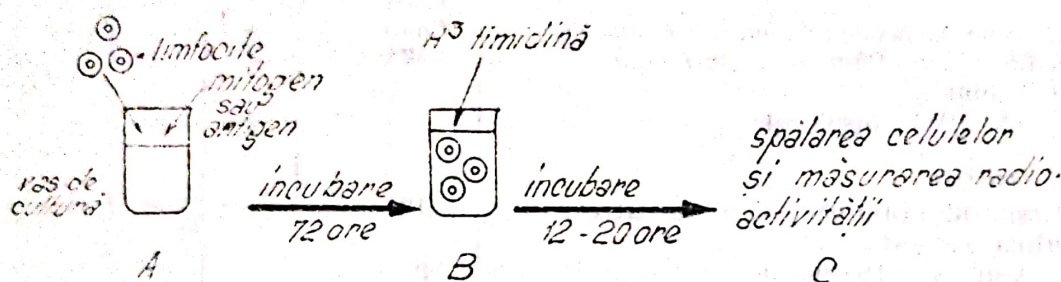


Fig. 24.8. — Schema testării cantitative a răspunsului limfocitelor la stimularea cu antigene de rapel sau cu mitogeni, prin măsurarea incorporării timidinei tritiată (H^3 -timidină).

măsoară radioactivitatea limfocitelor marcate cu izotopul radioactiv („pulse-labelled“) în cpm („counts per minute“) și se calculează indicele de stimulare:

$$\text{Indice de stimulare} = \frac{\text{cpm limfocitelor din cultura stimulată cu mitogeni}}{\text{cpm limfocitelor din cultura martor, nestimulată}}$$

În serul uman normal există factori supresori ai blastogenezei care influențează foarte mult rezultatele (unele proteine, hormoni etc.). Din acest motiv se preferă pentru culturile limfocitare serul fetal de vițel, pentru a se obține rezultate standardizate. În plus, în serul autolog al bolnavilor cu cancer concentrația unor factori supresori poate să fie mult crescută (complexe imune, alfa-fetoproteina, proteina C reactivă, unele glicoproteine, hormoni, medicamente și altele). Scăderea blastogenezei la cultivarea în ser autolog poate să reflecte deci prezența factorilor blocași serici și nu un deficit funcțional al limfocitelor.

În ultimul timp se preferă testarea blastogenezei la diferite doze de mitogeni (curba doză-răspuns) și după diferite intervale de timp (curba răspunsului în timp) pentru evaluarea unor alterații funcționale cantitative mai subtile*.

Blastogeneza la mitogeni a limfocitelor bolnavilor cu cancer a fost foarte mult studiată. În general s-a constatat o deprimare a răspunsului în formele avansate ale cancerelor solide (Chiricuță și colab., 1971, 1981; Herberman, 1974, 1979; Simu, 1978; Wanebo, 1979). În plus, s-a constatat că răspunsul

* De exemplu limfocitele din unele leucemii umane nu răspund la tehnica standard, dar dau răspunsuri la doze mai mari de mitogeni și mai ales după un interval prelungit de incubație, peste 5 zile.

la ConA este mai afectat decât cel la PHA (ConA stimulează preferențial limfocitele T supresoare) și că serul bolnavilor cu cancer conține factori de inhibiție a blastogenezei (Suciu-Foca și colab., 1973; Golub și colab., 1974; Herberman, 1974).

24.1.2.1.2.1.2.

Cultura limfocitară mixtă

Cultura limfocitară mixtă (MLC) este o formă particulară de transformare blastică și proliferare a limfocitelor T, obținută în urma cultivării împreună (cocultivare) a limfocitelor provenite de la doi indivizi cu antigene de histocompatibilitate diferite (antigene ale locusului HLA-DR). Particularitatea reacției de stimulare constă în faptul că are loc în lipsa unei preimunizări*. Metoda este larg utilizată în special în testarea compatibilității dintre donator și primitor, pentru selecționarea donatorilor în vederea grefelor de organe sau țesuturi.

Deoarece în culturile limfocitare mixte se produce blastogeneza ambelor populații de limfocite, celulele stimulându-se reciproc, se recurge la un artificiu tehnic. Se previne transformarea blastică a limfocitelor donatorului prin iradiere (2 000 R) sau prin tratare cu mitomicină C. Limfocitele astfel prelucrate rămân vii, dar nu mai pot să sintetizeze ADN și sînt denumite limfocite stimulatorie. Limfocitele primitorului, neprelucrate, care pot sintetiza ADN, sînt denumite limfocite stimulate, reactive sau care răspund.

Practic, se cultivă împreună limfocitele de la bolnavii cu cancer, limfocitele reactive ($1 \cdot 10^6$ celule/ml) cu limfocitele stimulatorie (tot $1 \cdot 10^6$ cel/ml) de la o persoană normală histo-incompatibilă în condiții identice cu cele utilizate pentru blastogeneza la mitogeni (fig. 24.8). După 5 zile de cocultivare se adaugă timidină tritiată și după 12—18 ore limfocitele se spală și se măsoară cantitatea de radioactivitate incorporată în ADN al limfocitelor stimulate (la spectrometru de scintilație lichidă beta) (fig. 24.9).

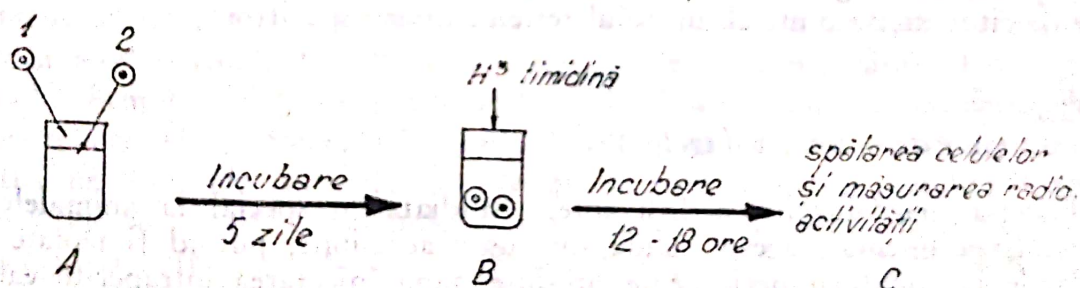


Fig. 24.9. — Principiul reacției mixte limfocitare. 1 = limfocite reactive („responder“) provenite de la persoana testată; 2 = limfocite stimulatorie provenite de la o persoană sănătoasă histoincompatibilă. Aceste limfocite au fost în prealabil iradiate sau tratate cu mitomicină C; ele nu mai încorporează H^3 — timidină (nucleul negru).

Pentru unii autori, MLC evidențiază imunocompetența individului mai fidel decât blastogeneza la mitogeni. S-a constatat scăderea răspunsurilor la bolnavii cu cancere solide, mai ales în formele avansate ale bolii și în unele leucemii și limfoame, în special în limfomul Hodgkin, chiar în primele stadii evolutive (Suciu-Foca și colab., 1973; Golub și colab., 1974; Herberman, 1974; Wanebo, 1979). Aproximativ o treime din bolnavele cu cancer mamar dau

* În cazul în care există o reacție secundară, datorită unei presensibilizări (transfuzii transplante) răspunsul apare în 2—3 zile, comparativ cu 5—7 zile la neimunizați.

răspunsuri deprimare la MLC, dar în mod paradoxal bolnavii din stadiile incipiente (I și II) care dau răspunsuri diminuate, nu fac metastaze sau intervalul de timp pînă la apariția metastazelor este mult mai lung decît la bolnavii cu răspunsuri normale la MLC (Herberman, 1979).

24.1.2.1.2.2.

Producerea de limfokine

În afară de blastogeneza stimularea limfocitelor poate fi pusă în evidență prin faptul că limfocitele activate eliberează mediatori celulari, denumiți limfokine. Prezența limfokinelor în lichidul de cultură este recunoscută prin acțiunea pe care o au asupra altor tipuri de celule, în special asupra macrofagelor și leucocitelor (polimorfonucleare). Dintre limfokine sînt testate de obicei: factorul de inhibiție a migrării macrofagelor (MIF) și leucocitelor (LIF sau LMIF), mai rar factorul chemotactic (CF).

Limfokinele acționează în doze extrem de mici; astfel, MIF eliberat de 1—2 limfocite activate este suficient pentru a induce inhibiția migrării a peste 100 de macrofage. Din acest motiv, testarea producerii de limfokine se pretează pentru evidențierea stimulării limfocitelor cu antigene de rapel. Chiar dacă numărul limfocitelor activate este foarte mic (1—2%), el este suficient pentru a induce un efect vizibil în celulele indicatoare, respectiv macrofage sau polimorfonucleare. În oncologie, aceste teste sînt utilizate în special pentru evidențierea sensibilizării limfocitelor la antigenele tumorale, motiv pentru care vor fi descrise la testele de explorare a imunității specifice antitumorale.

24.1.2.1.2.3.

Funcția citotoxică

Deoarece activitatea citotoxică a limfocitelor față de celulele alogene nu este deprimată, în general, la bolnavii cu tumori solide, vor fi descrise tehnicile de citotoxicitate în subcapitolul testelor imune specifice.

24.1.2.1.3.

Funcția monocitelor (macrofagelor)

Funcția macrofagelor a fost intens studiată în special la animalele cu tumori. Experimental, aceste celule sînt ușor accesibile, putînd fi izolate din exsudatele inflamatorii peritoneale produse după injectarea intraperitoneală a diverselor substanțe iritante. La oameni însă, din motive etice, se studiază în special monocitele din sângele periferic. Izolarea acestor celule se obține după centrifugarea sîngelui în gradient de densitate (fig. 24.1) pe baza proprietății lor de a adera la suprafețe de sticlă (sau plastic) sau prin filtrare pe gel de Sephadex G-10.

Testarea funcțională a monocitelor cuprinde capacitatea de fagocitoză a diferitelor particule: de Latex, coloranți (roșu neutru) sau a microorganismelor (vezi secțiunea 24.1.2.1.4. și 24.1.2.1.4.2.). Mai rar este testată activitatea unei enzime monocitare, lizozimul.

Cel mai utilizat test de apreciere a funcției monocitelor este capacitatea acestora de a răspunde la agenții chemotactici (sau chimiotactici), adică de a migra în direcția acestor agenți.

Pentru evaluarea chemotaxiei macrofagelor pot fi folosiți agenți chemotactici:

- factorul chemotactic (CF sau LDCF) produs de limfocitele stimulate cu concanavalina A;
- componente activate ale complementului: C3a, C5a sau complexul C567 activat;
- extracte celulare din polimorfonucleare neutrofile (din granulațiile acestor celule);
- unele peptide microbiene.

Testul se practică în camere de cultură speciale, camere Boyden, formate din 2 compartimente separate între ele printr-o membrană filtrantă, cu pori mici, prin care monocitele pot să treacă numai prin mișcări active (pori de aproximativ 5 μ m). Se introduce în compartimentul inferior mediul de cultură, în care s-a adăugat agentul chemotactic, iar în compartimentul superior suspensia de monocite pe care o testăm (fig. 24.10). După 2—3 ore de incubare se citește numărul de monocite care au rămas sechestrate în membrana fil-

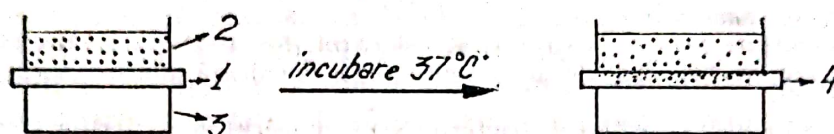


Fig. 24.10. — Schema tehnicii de studiere a chemotaxiei monocitelor sau a granulocitelor.

1. Membrana filtrantă (Millipore, Sartorius). 2. Suspensia de monocite sau granulocite. 3. Mediul care conține agentul chemotactic care atrage celulele. 4. În cursul migrării, sub influența agentului chemotactic, celulele sînt sechestrate în porii membranei filtrante.

trantă, ca urmare a migrării lor spre agentul chemotactic. În acest scop, membrana este spălată, fixată, colorată (May Grünwald-Giemsa) și făcută transparentă (cu xilol). Monocitele devin astfel vizibile la microscop. Există numeroase variante tehnice ale acestei metode, încă incomplet standardizate, care afectează rezultatele ca de exemplu: tipul de membrană sau agentul chemotactic utilizat, tehnica chemotaxiei, de exemplu în gel de agaroză.

În mod normal, 20—40% din monocitele sangvine răspund *in vitro* la stimulii chemotactici (Falk și Leonard, 1980). S-a constatat că scăderea chemotaxiei monocitelor, observată la unii bolnavi cu cancer, are o semnificație prognostică nefavorabilă (în melanom malign, cancere mamare, pulmonare, rectale, renale sau de colon). După îndepărtarea chirurgicală a tumorilor s-a observat revenirea la normal a chemotaxiei (Snyderman și colab., 1977, 1979; Kjeldsberg și colab., 1978; Wanebo, 1979).

24.1.2.1.4.

Funcțiile polimorfonuclearelor (PMN)

În general, funcțiile polimorfonuclearelor (granulocitelor) din sângele periferic nu sînt alterate decît rar în cancer și anume în stadiile foarte avansate ale bolii. În schimb, s-a constatat deprimarea semnificativă a acestor funcții în unele forme de leucemii, mai ales în cele acute. Testarea funcțională cuprinde: funcția fagocitantă, funcția bactericidă și chemotaxia. Ultima este similară cu cea descrisă deja la monocite (vezi 24.1.2.1.3).

24.1.2.1.4.1.

Funcția fagocitantă

Se testează capacitatea granulocitelor izolate din sângele periferic, de a fagocita diverse particule (latex, zimosan), bacterii (*E. coli*, stafilococ etc.) sau fungi (*Candida albicans*) în prezența serului uman proaspăt, ca sursă de opsonine (anticorpi și complement). În mod normal, 95—100% din PMN sînt capabile să fagociteze peste 10 bacterii (sau particule) per celulă. Capacitatea fagocitantă depinde de unii factori ca de exemplu: raportul dintre numărul de bacterii și cel de granulocite, sursa serului (ser de bolnav sau ser de martor sănătos), timpul de incubare etc. De obicei se apreciază atât indicele fagocitar, cât și indicele opsonic.

— *Indicele fagocitar (IF)* reprezintă numărul mediu de bacterii (particule sau fungi) fagocitate de un granulocit. Practic se incubează timp de 15—30 de minute un număr cunoscut de PMN, cu un număr cunoscut de bacterii, în prezența serului uman proaspăt. Calculul se poate face prin două metode:

a) se fac frotiuri care se fixează și se colorează. Se citește la microscop numărul de bacterii fagocitate de 100—200 de granulocite și se calculează numărul mediu de bacterii per granulocit;

b) cunoscînd numărul inițial de bacterii (N_0) și numărul de bacterii nefagocitate, după incubarea timp de 15—30 de minute (N_t), se poate calcula fie indicele fagocitar (IF), fie procentual (IF%):

$$IF = N_0 - N_t \quad \text{sau} \quad IF\% = \left(1 - \frac{N_t}{N_0}\right) \cdot 100$$

Pentru a aprecia numărul de bacterii extracelulare (N_t) se recurge la centrifugări ușoare (la 10 g sau 4 minute la 100 g).

— *Indicele opsonic* evidențiază capacitatea opsonizantă a serului utilizat în testul de fagocitoză. Se apreciază prin calcularea indicilor fagocitari ai PMN în prezența serului autolog (de bolnav) și a serului martor (de la persoane sănătoase).

24.1.2.1.4.2.

Funcția bactericidă

Uneori funcția fagocitantă a granulocitelor este normală, dar capacitatea de a distruge microorganismele fagocitate este diminuată. Din acest motiv, se testează în paralel și funcția bactericidă care apreciază numărul de bacterii (sau fungi) omorîte după fagocitoza lor. În principiu se utilizează o tehnică similară cu cea folosită pentru fagocitoză. Numărul de bacterii fagocitate și omorîte se apreciază la diverse intervale de timp de incubare a granulocitelor cu bacteriile (60—120—150 de minute).

În acest scop, se îndepărtează microorganismele nefagocitate prin centrifugare, iar cele fagocitate sînt eliberate din celule prin lizarea granulocitelor (cu apă distilată sterilă, saponină sau dezoxicolat de sodiu). Numărul de bacterii intracelulare rămase vii se stabilește prin cultivarea pe medii de cultură. Indicele bactericid (IB) se poate calcula știind numărul de bacterii viabile inițiale (N_0 la 15 minute de incubare) și cel de la sfîrșitul testării (N_t la 120 sau 150 de minute).

$$IB = N_0 - N_t \quad \text{sau} \quad IB\% = \left(1 - \frac{N_t}{N_0}\right) \cdot 100$$

24.1.2.1.4.3.

Testul de reducere a NBT (nitroblue tetrazolium)

Testarea funcției PMN se poate evalua și prin proprietatea acestora de a se activa în urma fagocitozei. Prin activare crește brusc respirația celulelor („explozia respirației”), glicoliza oxidativă și activitatea unei enzime, NADH-

oxidaza. Activitatea crescută a acestei enzime se pune în evidență cu ajutorul unei substanțe — NBT — care prin reducere se transformă într-o sare insolubilă, de culoare albastru-violet (fig. 24.11).

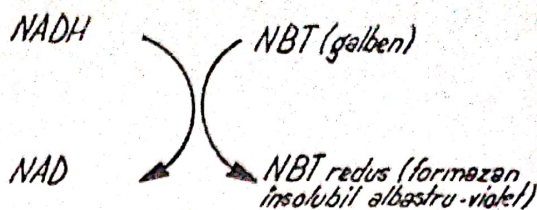


Fig. 24.11. — Testul de reducere a NBT.

După incubarea leucocitelor cu particule de latex în prezența NBT apar în interiorul polimorfonuclearelor granule albastre-violet, vizibile la microscop. Celulele alterate funcțional nu pot să reducă NBT și deci sînt lipsite de aceste granulații.

Capacitatea funcțională a granulocitelor a fost studiată în special la bolnavii cu leucemii mieloidă și limfocitare acute sau cronice și în boala Hodgkin. La acești bolnavi, unii autori au semnalat scăderea capacității fagocitante, bactericide și de reducere a NBT (McRipley și colab., 1967; Haim și colab., 1977; Grogan și colab., 1980). Alți autori însă au constatat, în aceleași malignități, o creștere a funcțiilor granulocitelor (Hancock și colab., 1976; Klostergaard și colab., 1980). Rezultate contradictorii au fost publicate și la bolnavii cu tumori solide (Henon și colab., 1977; McRipley și colab., 1967; Klostergaard și colab., 1980). Se pare că serul bolnavilor cu cancer are o acțiune stimulatorie puternică asupra fagocitozei (Klostergaard și colab., 1980).

24.1.2.2.

Factorii umorali

24.1.2.2.1.

Nivelurile imunoglobulinelor serice

În investigațiile clinice se apreciază curent nivelurile serice ale claselor principale de imunoglobuline — IgG, IgA și IgM — prin metoda imunodifuziei radiale (Mancini). În principiu, atunci cînd un antigen difuzează ra-

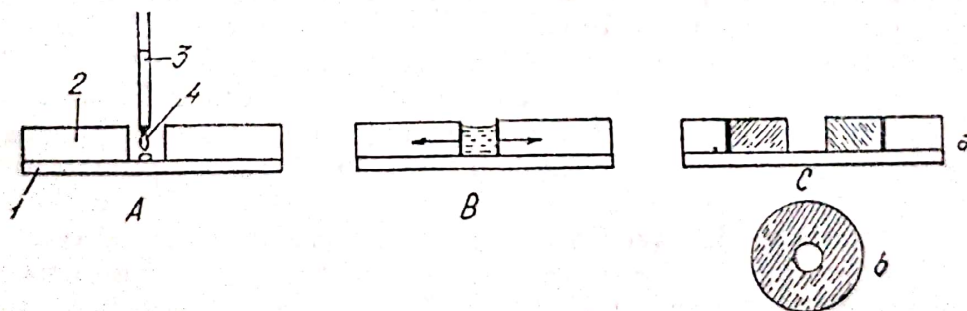


Fig. 24.12. — Principiul tehnicii de imunodifuzie radială Mancini.

A. Introducerea antigenului: 1. placă Petri de sticlă sau din material plastic; 2. strat de agar semisolid care conține anticorpii specifici (ex. anti-IgG); 3. pipetă capilară cu care se introduce o cantitate exactă din serul uman de testat (ex. 5 μ l); 4. godeu săpat în agar. B. Difuzarea antigenului din godeu în agar (exemplu IgG). C. Formaarea inelului de precipitare: a) văzut în secțiune transversală, b) văzut de sus.

dial într-un mediu semisolid în care au fost incorporați anticorpi specifici, apare un inel de precipitare care are o suprafață direct proporțională cu concentrația antigenului (fig. 24.12 și 24.13). Practic se amestecă antiserul monospecific, care conține anticorpi antiimunoglobulină umană (de exemplu

anti-IgG) cu o soluție de agar. Amestecul este turnat pe plăci Petri (de sticlă sau plastic) și după întărirea lui se taie godeuri în care se introduc 3 concentrații cunoscute de IgG (3 standarduri) și serurile bolnavilor de testat. După 24—48 de ore (pentru IgG și IgA) sau 72 de ore (pentru IgM) se măsoară diametrele inelelor de precipitare apărute și se calculează concentrația prin comparare cu cele 3 standarduri (fig. 24.13/b).

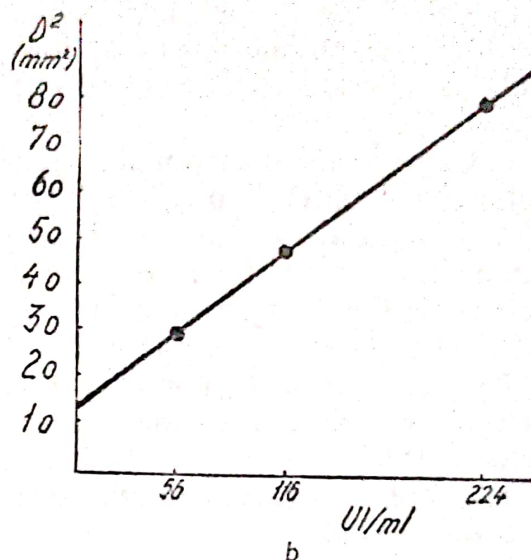
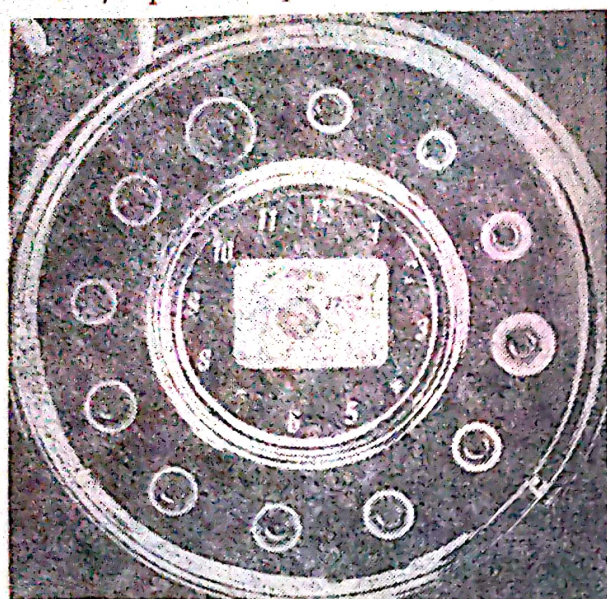


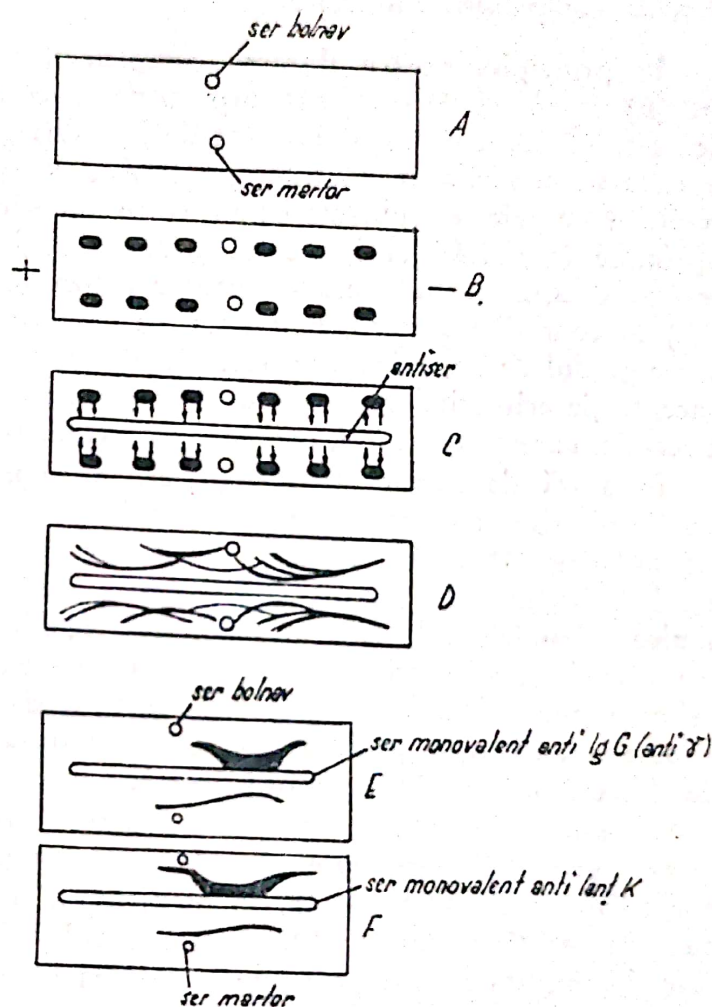
Fig. 24.13. — a) Placă de imuno-difuziune radială pentru determinarea cantitativă a IgG. Pe locurile 1, 2 și 3 au fost introduse seruri standard cu concentrații cunoscute de IgG (în exemplul din figură cele 3 concentrații sînt 56, 116 și respectiv 224 UI/ml). b) Curba de etalonare a plăcii din fig. 24.13 a. Nivelurile de IgG din serurile testate se extrapolează din curba de etalonare.

În general testarea nivelurilor serice ale imunoglobulinelor nu are semnificație diagnostică sau prognostică în cancerle solide. La unele bolnave cu cancer mamar s-a constatat o scădere a IgG care precedă apariția clinică a metastazării (Chiricuță și colab., 1971, 1972, 1981; Roberts și colab., 1975). S-a semnalat scăderea IgA la bolnavii cu cancer pulmonare și ale capului și gâtului, dar nu a fost confirmată de alte studii (Wanebo, 1979). Se pare că imunitatea umorală nu este afectată în cancerle solide decît eventual în stadiile finale, cînd s-a observat și o reducere a capacității de producere a anticorpilor (de tip IgM și IgA) în răspunsul primar la flagelină (Levin și colab., 1970).

Alterări marcate ale nivelurilor imunoglobulinelor serice se constată în gammapatii monoclonale. La acești bolnavi componenta monoclonală este mult crescută — de exemplu IgG în mielom G, IgA în mielom A sau IgM în macroglobulinemia Waldenström — iar restul imunoglobulinelor sînt mult scăzute. În boala lanțurilor ușoare (de exemplu mielom Bence-Jones) de obicei toate cele 3 clase de imunoglobuline sînt scăzute. O situație similară apare în leucemia limfatică cronică. În boala Hodgkin și leucemiile monocitare, nivelurile imunoglobulinelor sînt normale sau crescute (Stites, 1980). În aprecierea nivelurilor anormale de imunoglobuline trebuie însă să se țină seama de vîrsta bolnavului, deoarece se știe că la copii nivelurile imunoglobulinelor sînt mult mai mici. Ele cresc progresiv, cu vîrsta, atîngînd nivelurile normale ale adultului doar în adolescență.

Evidențierea componentelor monoclonale (M) se face de obicei prin electroforeza proteinelor serice pe suporturi solide (în special în gel de agaroză sau pe benzi de acetat de celuloză). Proteina monoclonală poate să apară în zona alfa₂, beta sau gammaglobulinelor sub forma unei benzi înguste, bine delimitată, intens colorată, care la integrare apare ca un vîrf ascuțit (turn de biserică). Monoclonalitatea se pune în evidență prin imuno-electroforeză în care se utilizează antiseruri monospecifice care reacționează cu o singură clasă de imunoglobuline — anti-IgG, IgA, IgM, IgD sau IgE — și anti-lanțuri ușoare: anti-λ și anti-K.

Fig. 24.14. — Tehnica imuno-electroforezei reprezentată schematic. (A) Săparea godeurilor în agarul semisolid și introducerea serului de bolnav și a serului martor provenit de la o persoană sănătoasă. (B) Separarea componentelor proteice ale serului prin electroforeză. (C) Săparea unui șanț longitudinal în agar și umplerea lui cu antiser polivalent față de toate componentele serice umane. Anticorpul și proteinele serice difuzează în agar. (D) Formarea arcilor de precipitare în zona de întâlnire a anticorpilor cu proteinele serice. (E) și (F) Aspectele imuno-electroforezelor cu seruri monovalente (monospecifice), adică față de un singur tip de proteină serică — în figură anti-IgG (E) anti-lanț K (F). Evidențierea componentei monoclonale (mielom) de tip IgG. La fiecare lamă sus este serul de bolnav, iar jos serul martor (jos aspect normal).



Imuno-electroforeza (i.e.f.) este o tehnică mixtă în care se combină o separare electroforetică cu o precipitare imună (fig. 24.14). Practic, se acoperă lamele de microscop cu agar (sau agaroză) dizolvat într-o soluție tampon. După solidificare, se taie orificii circulare în care se pune serul de testat și un ser martor normal. După separarea proteinelor din ser, prin electroforeză, se taie un șanț care este apoi umplut cu antiserul polivalent (polispecific). Se lasă lamele astfel tratate timp de 24 de ore într-o cameră umedă, ca să difuzeze proteinele în mediu. După difuziune, apare câte un arc de precipitare la întâlnirea dintre fiecare antigen și anticorpul său specific (fig. 24.14/D). Deoarece din cauza multiplelor arcuri de precipitare această imuno-electroforeză este greu de interpretat, în evidențierea componentelor monoclonale se utilizează antiseruri monospecifice (monovalente). Componenta monoclonală apare ca o îngroșare sau o îndoire a arcului de precipitare, care apare în același loc atât la i.e.f. cu ser anti-lanț ușor, cât și la cea cu ser anti-lanț greu (anti-gamma pentru IgG) (fig. 24.14/E și F).

Au fost puse în evidență componente monoclonale nu numai în mie-loame sau diferite tipuri de hemopatii maligne, ci și la bolnavi cu tumori so-lide. Aceștia reprezintă aproximativ 15—30% din cazurile cu imunoglobuline monoclonale. În tumorile solide apare mai frecvent IgG monoclonal, iar lo-calizările cu cea mai mare proporție de componentă M sînt cancerile recto-sigmoidiene, de prostată, mamare și pulmonare (Solomon, 1977).

24.1.2.2.2.

Nivelul complementului seric

În principiu, pentru dozarea complementului seric se utilizează eritro-cite (E) de obicei de oaie, anticorpi antieritrocitari (A), iar ca sursă de com-plement (C) serul proaspăt recoltat de la bolnav (sau păstrat la minus 70°C). Se testează capacitatea diluțiilor progresive de ser de a induce hemoliza eri-trocitelor de oaie sensibilizate cu anticorpi antieritrocite (EA)*. Rezultatele sînt exprimate în unități arbitrare CH₅₀/ml. O unitate CH₅₀ este cantitatea de ser (sau diluția serului) necesară pentru a liza 50% din hematiile sensibilizate (EA) în condiții standard. Sînt necesare condiții de strictă standardizare, de-oarece gradul de hemoliză este puternic influențat de o serie de factori precum: concentrația eritrocitelor, cantitatea și natura anticorpilor (IgG sau IgM), timpul de reacție, temperatura, pH, concentrația ionilor (Mg²⁺, Ca²⁺).

În afară de această titrare globală a complementului, se pot doza ni-velurile diferitelor componente ale acestuia C1q, C3, C4 etc., fie printr-o teh-nică analoagă (folosind cantități cunoscute din fiecare component în afară de cel testat, metodă pretențioasă și foarte laborioasă), fie prin tehnici immuno-chimice. Metodele cele mai utilizate sînt: tehnica imunodifuziei radiale (me-toda Mancini), al cărei principiu a fost deja expus la dozarea imunoglobuli-nelor și imunoelectroforeza în rachetă (metoda Laurell). În ambele metode se folosesc anticorpi specifici anti-componentul corespunzător al complemen-tului (de exemplu anti-C1q, anti-C3 etc.).

La aproximativ 10% din bolnavii cu diferite localizări și forme de cancer scade activitatea globală a complementului, CH₅₀ și/sau a diferi-telor componente. Din aceștia, la 60% există niveluri crescute de complexe imune în ser (Wanebo, 1979). La acești bolnavi diminuarea complementului poate fi explicată prin fixarea lui de complexe imune.

24.1.2.2.3.

Testarea complexelor imune (CI)

Complexele imune (CI) serice pot fi decelate prin mai multe metode, dar din păcate nici una nu este complet satisfăcătoare, deoarece nu poate decela complexe de orice mărime (greutate moleculară) sau în orice canti-tate. Cele mai utilizate metode sînt:

* Hemoliza se măsoară spectrofotometric (densitatea optică la 541 nm) prin absorbanta hemoglobinei, deoarece cantitatea de hemoglobină eliberată este direct proporțională cu numă-rul de hematii hemolizate.

24.1.2.2.3.1.

Precipitarea CI din ser cu polietilenglicol (PEG)

Precipitarea CI din ser cu polietilenglicol și aprecierea lor cantitativă fie prin dozarea proteinei din precipitatul format (spectrofotometric la 280 nm), fie, mai corect, prin dozarea imunoglobulinei sau complementului din precipitat (prin difuzie radială Mancini). În funcție de concentrația polietilenglicolului se pot obține rezultate aberante: fals-negative sau fals- pozitive (sint precipitate și alte proteine sau imunoglobuline). Din acest motiv se preferă alte metode mai exacte, cum sint: tehnicile radioimune și metoda cu celule Raji.

24.1.2.2.3.2.

Tehnica radioimună

Tehnica radioimună se bazează pe proprietatea complexelor imune de a fixa componentul C1q al complementului. Există mai multe variante, din care cele mai utilizate sint:

— *tehnica radioimună în fază solidă*. Componentul C1q este fixat pe un suport solid de polistiren (disc, mărgea sau pereții unei eprubete de polistiren). Apoi se incubează C1q astfel fixat, cu serul de testat; dacă serul conține CI, ele se leagă de C1q. După spălare se estimează cantitatea de CI legat cu ajutorul anticorpilor antiimunoglobulină umană, marcați radioactiv. Pe discul de polistiren vor fi deci C1q — complexe imune — anticorpi marcați cu izotopul radioactiv. Dozând radioactivitatea discului, se poate calcula cantitatea de CI din ser (vezi fig. 24-21);

— *tehnica radioimună în fază lichidă*, în care serul bolnavului este tratat cu C1q solubil marcat radioactiv. După un timp de incubație, C1q legat de complexe imune din ser este precipitat cu polietilenglicol și se măsoară radioactivitatea precipitatului.

24.1.2.2.3.3.

Metoda cu celule Raji

Estimarea complexelor imune cu celule Raji (linie celulară limfocitară B) se bazează pe faptul că celulele Raji sint înzestrate cu receptori pentru complement și Fc, dar sint lipsite de imunoglobuline de suprafață (SIg). Prin incubarea acestor celule cu serul de testat are loc legarea CI prin intermediul receptorilor pentru complement. După spălare, se determină cantitativ CI cu ajutorul anticorpilor antiimunoglobuline marcați radioactiv.

Deoarece s-a constatat că complexe imune formate din antigene tumorale—anticorpi specifici blochează mecanismele efectoare de apărare antitumorală, s-au făcut numeroase cercetări pentru decelarea CI în serul bolnavilor cu cancer. S-a constatat prezența lor cu o frecvență variabilă: de la 16% în limfoame, la 46—48% în cancere esofagiene, melanoame și sarcoame osteogene sau la 52% în cancere de colon. Tehnicile precise de dozare au evidențiat însă prezența CI la 19% din indivizii sănătoși de vîrste similare (Theofilopoulos și colab., 1977). S-a observat că, în general, bolnavii cu mase tumorale mai voluminoase sau metastaze au mai frecvent și în cantități mai mari CI (Samayoa și colab., 1977; Theofilopoulos și colab., 1977; Wanebo, 1979). Nu s-au constatat corelații între nivelul CI și terapia aplicată. Imunoterapia nespecifică, în special dacă este asociată cu imunoterapia specifică (vaccinuri tumorale), provoacă o creștere puternică, semnificativă, a cantităților de CI serice.

24.2.

Testarea imunității specifice (antitumorală)

Din punct de vedere tehnic, metodele de testare a imunității specifice față de tumorile maligne sint similare celor utilizate în aprecierea stării de imunocompetență generală. Deosebirea esențială constă în folosirea antige-

nelor tumorale (asociate tumorilor), sau a celulelor tumorale, în locul antigenelor de rapel. Cele mai utilizate metode de evaluare a imunității specifice sînt prezentate în tabelul 24.V. Ele cuprind tehnici *in vivo* și *in vitro* care investighează atît imunitatea mediată celular, cît și pe cea umorală.

TABELUL 24.V

METODE DE TESTARE A IMUNITĂȚII SPECIFICE ANTITUMORALE LA OAMENI

A) Testarea imunității mediate celular

1. Teste *in vivo*

Teste cutanate de hipersensibilitate întîrziată la antigenele tumorale („tumor-asociate“)

2. Teste *in vitro*

2.1. Stimularea limfocitelor (blastogeneză, proliferare)

2.2. Inhibiția migrării leucocitelor (producerea de limfokine)

2.3. Teste de citotoxicitate

2.3.1. Testul de inhibiție a coloniilor

2.3.2. Testul de microtoxicitate

2.3.3. Testul de eliberare a izotopilor markeri (Cr^{51}) prin liza celulelor tumorale

B) Tehnici serologice

1. Teste de citotoxicitate cu anticorpi și complement

2. Testarea legării anticorpilor de membranele celulelor tumorale (imunofluorescență)

3. Decelarea antigenelor tumorale solubile: CEA, AFP

Rezultatele obținute depind esențial de: (a) metoda de izolare și preparare a antigenelor din tumori; (b) folosirea unor sisteme de control (martore) corespunzătoare; (c) detaliile tehnice ale metodelor utilizate. În special primele două criterii sînt extrem de importante în demonstrarea specificității reacțiilor imune obținute la testarea bolnavilor cu cancer. De exemplu, inițial au fost utilizate ca sursă de antigene tumorale omogenatele totale din tumori. Ulterior s-a constatat că antigenele intracelulare nu sînt eficiente în respingerea sau liza celulelor tumorale și că ele pot să inducă efecte nespecifice. Din acest motiv, în prezent se utilizează preparate care conțin fragmente de membrane celulare tumorale solubilizate. Condiția esențială este ca aceste fragmente de membrană să aibă antigenicitatea inițială, deci metodele de preparare să nu le distrugă, să nu le altereze antigenicitatea. Din nefericire, s-a constatat că unele metode fizice sau chimice pot să modifice antigenicitatea membranelor celulare.

De exemplu:

a) tratamentele fizice: iradierea celulelor (raze X, gamma, ultraviolete), încălzirea, omogenizarea, sonicarea, modificarea pH etc.;

b) tratamente enzimatice cu: tripsină, chimotripsină, papaină, bromelină, collagenază sau alte enzime;

c) unele substanțe care reacționează cu:
— glucidele; neuraminidaza, hialuronidaza, periodatul de sodiu, unele lectine (ConA, PHA) și altele;

- grupările aminice: formaldehida, glutaraldehida, anhidrida acetică, derivați de dinitrobenzen etc.;
- grupările sulfhidrilice: iodacetat, iodacetamidă, p-hidroxi-mercuribenzoat;
- acizii nucleici: mitomicina C, ribonucleaza, bromo- sau iododezoxiuridina, coloranții nucleari.

Din acest motiv, pentru izolarea membranelor celulare sînt utilizate metode blînde de omogenizare sau de sonicare a celulelor tumorale, urmate de extracția antigenelor de membrană de exemplu cu soluții 3 molare de clorură de potasiu (KCl 3 M) sau detergenți neionici și separare prin cromatografie pe gel de Sephadex. Cu toate acestea, au fost descrise cazuri în care celulele tumorale intacte dau reacții pozitive, în timp ce extractele nu.

Rezultatele obținute diferă în funcție de originea antigenelor utilizate în testare. Unele extracte de tumori alogene pot să dea mult mai frecvent rezultate pozitive decît extractele de tumori autoloage. Deoarece există divergențe în literatură cu privire la intervenția antigenelor de histocompatibilitate străine în testarea imună este preferabilă utilizarea tumorilor autoloage. Din păcate, sînt astfel excluși din testare tocmai bolnavii cu tumori prezente și cei cu tumori *in situ*, la care testarea ar putea furniza indicații diagnostice și prognostice.

Utilizarea unor linii celulare stabilizate (celule tumorale cultivate continuu *in vitro*) ar putea facilita mult testarea imunologică. Există însă pericolul ca prin cultivare celulele să-și modifice antigenitatea.

O sursă de eroare frecvent întîlnită în testarea extractelor tumorale o constituie contaminarea microbiană a acestor extracte. Contaminarea generează rezultate fals-pozitive determinate de reacția la antigenele microbiene (de rapel) și nu la cele tumorale. Testele de control trebuie să cuprindă nu numai testarea martorilor sănătoși, a celor cu tumori benigne și maligne de alte forme și/sau localizări, ci și testarea unor extracte similare realizate din același tip de țesut normal cu cel de origine al tumorii.

Importanța unor teste de control precise reiese evident din cercetările privind testele cutanate la bolnavii cu melanom din Uganda. În 1970, Fass și colab., au constatat reacții pozitive la extractele de tumori autoloage. Autorii au considerat că aceste extracte conțin antigene tumorale specifice, deoarece bolnavii nu reacționau la extracte similare realizate din leucocitele proprii. Ulterior, Bluming și colab., (1972) au demonstrat că antigenele nu erau specifice melanomului, deoarece bolnavii cu reacții pozitive la extractul tumoral reacționează identic la extractele de piele normală. Răspunsul imun obținut la testele cutanate evidențiază deci o reacție imună față de antigene tisulare prezente în pielea normală și absente în leucocite (Herberman, 1974). O situație similară a fost observată și în cazul cancerelor mamare. Au fost obținute reacții pozitive (la testele cutanate sau de inhibiție a migrării leucocitelor) la antigene extrase din țesut mamar normal (Herberman, 1974, 1979). S-a constatat că din extractele de tumori mamare se pot izola prin cromatografie pe Sephadex G-200 două fracțiuni:

- una care pare să conțină antigene asociate tumorii (fracțiunea 2b) și provoacă reacții pozitive la majoritatea bolnavilor cu cancer mamar;
- alta (fracțiunea 2a) care conține antigene asociate țesutului mamar normal și dă reacții pozitive numai la bolnavii cu cancer mamar localizat (negative la cele cu forme diseminate).

În plus, în testare, contează cantitatea de antigen din extractul utilizat. S-a observat de exemplu că extractele de leucocite normale cu concentrații proteice mari pot să dea reacții pozitive la bolnavii cu leucemii, ca și la persoanele normale, pe cînd cele cu concentrații proteice mici (sub 0,1 mg proteine) nu dau reacții pozitive la persoanele martore.

Deoarece principiile și tehnicile utilizate în testarea hipersensibilității întîrziate și a stimulării limfocitelor au fost deja descrise la testele de imunocompetență generală, nu vom insista asupra lor.

24.2.1.

Teste in vivo, teste cutanate de hipersensibilitate întârziată la antigenele tumorale

Se execută și se interpretează la fel cu testele cutanate de rapel. Pentru testare se utilizează extracte solubile ale membranelor celulelor tumorale: autoloage, alogene (de același tip) sau celule tumorale cultivate *in vitro* — linii stabilizate.

Au fost testați bolnavi cu diferite malignități: melanoame, sarcoame, leucemii și limfoame, cancere mamare, digestive, renale, de col uterin etc. În general, bolnavii anergici la testele de rapel nu răspund nici la antigenele tumorale (Herberman, 1974).

Tot un test cutanat este și *testul Makari* (1960) sau MIT („Makari Intradermal Test”), care utilizează ca antigen o polizaharidă izolată din fracțiunea mitocondrială a celulelor tumorale (TPS-1 dintr-un carcinom epidemoid, TPS-2 dintr-un fibrosarcom sau TPS-3 dintr-un limfom). Frecvența reacțiilor pozitive este diferită, variind cu diverși autori între 60–100% la bolnavii netratați (cu cancere incipiente), 19–60% la bolnavii cu forme avansate sau cu recidive, aproximativ 42% în afecțiunile nemaligne și 11–21% la martorii sănătoși (Concannon și colab., 1976).

24.2.2.

Teste in vitro

24.2.2.1.

Stimularea limfocitelor — răspunsul blastogen și de proliferare

Tehnica testării este similară cu cea descrisă deja la testele de imuno-competență generală. Se pot testa limfocitele izolate din sângele periferic sau din ganglionii limfatici loco-regionali. Ca stimulator pot fi utilizate:

— celulele tumorale: autologe (proaspete sau conservate la mai puțin de minus 70°C), alogene sau liniile stabilizate;

— antigene tumorale solubile.

În general, se pare că celulele și extractele celulare alogene pot să inducă stimularea nespecifică a limfocitelor normale, deci pot furniza rezultate false- pozitive (Herberman, 1974, UICC Technical Report, 1976). Uneori celulele tumorale (autoloage sau alogene) sau extractele tumorale (în special în cazul melanomului) pot să conțină substanțe mitogene nespecifice, care stimulează puternic limfocitele bolnavilor, similar sau chiar mai puternic decât PHA. În general, proporția limfocitelor transformate blastice și indicele de stimulare obținut în urma stimulării cu antigene tumorale este similară cu cea observată după stimularea cu antigene de rapel (Herberman, 1974). Rezultatele obținute nu furnizează date valabile în aprecierea stadiului, evoluției și prognosticului bolii (Van Ky și colab., 1976).

24.2.2.2.

Producerea de limfokine

24.2.2.2.1.

Inhibiția migrării leucocitelor (LMI) sau macrofagelor (MI)

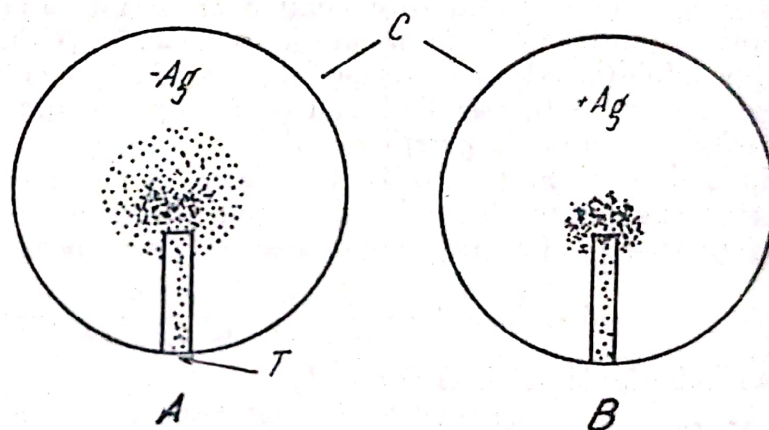
În testările clinice este folosită de obicei tehnica directă, în care se utilizează întreaga populație leucocitară din sângele periferic: limfocitele, monocitele și polimorfonuclearele. Stimularea limfocitelor de către antigenul spe-

cific determină eliberarea factorului de inhibiție a migrării leucocitelor (LIF), factor care împiedică migrarea spontană a polimorfonuclearelor (fig. 24.15).

În principiu, se realizează un concentrat leucocitar din sângele periferic, cu ajutorul unui agent de sedimentare a hematiilor (de exemplu o soluție de dextran). Leucocitele spălate sînt suspendate într-un mediu de cultură (aproximativ $1-2 \cdot 10^8$ celule/ml) și introduse în tuburi capilare. Capilarele se închid la un capăt, se centrifughează, pentru a se sedimenta leucocitele și apoi se taie la interfața celule-lichid. Porțiunea din capilar care conține leucocitele se fixează pe planșeul unei camere speciale de cultură, camere care sînt apoi umplute cu mediul de cultură. Pentru testare se utilizează 4—6 camere de cultură în care se introduce în mediu antigenul tumoral și un număr identic de camere martore, în care nu se introduce antigen. După o incubare de 18—24 de ore (la 37°C în aer cu 5% CO_2) se citesc rezultatele planimetric la microscop. Dacă limfocitele au fost presensibilizate la antigenul tumoral testat, ele vor produce LIF în camerele în care antigenul este prezent. LIF va acționa asupra polimorfonuclearelor și va inhiba migrarea lor, din tubul capilar pe planșeul camerei de cultură (fig. 24.15).

Fig. 24.15. — Schema tehnicii de evidențiere a inhibiției migrării leucocitelor (sau macrofagelor) prin metoda cu tuburi capilare.

A: migrarea leucocitelor în cultura martoră lipsită de antigen, B: migrarea leucocitelor în cultura test în prezența antigenului (C = cameră de cultură, T = tub capilar).



Comparînd suprafața de migrare a polimorfonuclearelor din camerele de cultură cu antigen și fără antigen, se poate aprecia gradul de inhibiție a migrării fie prin indexul de migrare (IM), fie prin indexul de inhibiție a migrării (II).

$$\text{I.M.} = \frac{\text{suprafața medie de migrare cu antigen}}{\text{suprafața medie de migrare fără antigen}} \times 100$$

$$\text{I.I.} = \left(1 - \frac{\text{suprafața medie de migrare cu antigen}}{\text{suprafața medie de migrare fără antigen}} \right) \times 100$$

În general, s-a constatat că există un grad de corelație între inhibiția migrării leucocitelor și răspunsul la testele cutanate de hipersensibilitate întârziată.

Există numeroase variante tehnice ale metodei. În afară de tehnica cu tuburi capilare sau microcapilare deja descrisă (metoda Soborg și Bendixen) sînt utilizate: tehnica migrării leucocitelor din godeuri săpate în gel de agar (metoda Clausen) și tehnica micropicăturii, în care se apreciază migrarea leucocitelor incorporate într-o micropicătură de agar semisolid (metoda McCoy). În plus, pe lângă aceste tehnici directe, realizate într-o singură etapă, există și tehnici indirecte, în 2 timpi: o primă fază de cultivare a limfocitelor în mediu cu antigen, urmată de a doua etapă, în care supernatantele culturilor de limfocite sînt testate pentru prezența LIF pe polimorfonucleare umane sau pentru MIF (factorul de inhibiție a migrării macrofagelor) pe macrofage peritoneale de șoareci sau de cobai.

Răspunsul imun al bolnavilor la antigenele tumorale mai poate fi testat prin alte 2 metode:

24.2.2.2.2.

Inhibiția aderenței leucocitelor (LAI)

În principiu, prin incubarea leucocitelor cu antigenul, față de care bolnavul prezintă o reacție imună, are loc o inhibiție a capacității leucocitelor de a adera la suprafețele de sticlă sau de plastic. Fenomenul este denumit inhibiția aderenței leucocitelor sau LAI („Leucocyte Adherence Inhibition”). În ultimii ani, această metodă a început să fie utilizată de numeroși cercetători, datorită faptului că este ușor de executat și necesită un timp mai scurt de incubare 1—2 ore, comparativ cu 18—24 de ore, timpul necesar pentru inhibiția migrării leucocitelor (Intern. Workshop on LAI, 1979). Răspunsurile obținute nu se corelează însă cu reacțiile cutanate de hipersensibilitate întârziată și nici cu cele de inhibiția migrării. Acest fapt sugerează că mecanismele angajate în cele două reacții sînt diferite. Există 3 variante tehnice: tehnica cu hemocitometru (Halliday și Miller), tehnica în tuburi (Holán și colab.) și tehnica în microcamere — microteste (Holt și colab.).

În principiu se incubează leucocitele bolnavului, izolate din sângele periferic, într-un mediu care conține antigenul testat și comparativ în mediu lipsit de antigen (30 de minute la 37°C în 5% CO₂ și 95% aer). Se apreciază apoi inhibiția aderenței acestor leucocite după o oră de incubare în hemocitometre (camere Burger-Turk sau de alt tip), în tub sau în microcameră, comparînd aderența de pereții de sticlă în mediul cu antigen (test) și în mediul lipsit de antigen (control). Aprecierea se poate realiza în două moduri: fie prin numărarea celulelor aderente (în metoda în hemocitometru sau în microcameră), fie prin numărarea celulelor neaderente (metoda în tuburi).

$$LAI\% = \left(1 - \frac{\text{nr. mediu de celule aderente în test}}{\text{nr. mediu de celule aderente control}}\right) \times 100$$

sau indicele de neaderență (NAI):

$$NAI\% = \frac{\text{nr. mediu de celule neaderente test} - \text{nr. mediu de celule neaderente control}}{\text{nr. mediu de celule neaderente control}} \times 100$$

24.2.2.2.3.

Inhibiția mobilității electroforetice a macrofagelor (MEM)

În principiu, limfocitele care răspund la antigen eliberează un factor care inhibă mobilitatea electroforetică a macrofagelor. Pe această bază s-a elaborat testul de inhibiție a mobilității electroforetice a macrofagelor, MEM („Macrophage Electrophoretic Mobility”). Sistemul de testare cuprinde limfocite izolate de la bolnav și macrofage peritoneale de șoarece sau de cobai. Migrarea electroforetică se realizează în aparate speciale de electroforeză celulară — citofereometre. Există două variante:

— tehnica *directă* (Field și Caspary), în care se amestecă limfocitele cu macrofagele și apoi se determină migrarea electroforetică a macrofagelor în prezența antigenului, comparativ cu cea în absența antigenului;

— tehnica *indirectă* (Pritchard), care apreciază încetinirea migrării electroforetice a macrofagelor în prezența supernatantelor de culturi limfocitare stimulate cu antigen, comparativ cu supernatantele culturilor nestimulate (martore).

Rezultatele obținute la toate testele de reactivitate la antigenele tumorale: cutanate, blastogeneză (proliferare), inhibiția migrării leucocitelor, LAI și

MEM diferă foarte mult în funcție de autor. În general, bolnavii cu cancer incipient prezintă mai frecvent reacții pozitive, decât cei cu forme avansate. Au fost întâlnite adesea rezultate pozitive la antigene tumorale „greșite”, de tipuri și localizări diferite de tumoarea autoloagă, sau lipsa de răspuns la antigenele tumorii autoloage. Proportia reacțiilor pozitive la bolnavii cu tumori benigne este ridicată, depășind uneori pe cea a bolnavilor cu cancer avansate. În plus, tratamentele (chirurgicale, raze Röntgen și citostaticele) induc o deprimare puternică a răspunsurilor imune pe o durată de timp variabilă. Imunoterapia nespecifică modifică aceste răspunsuri, dar din păcate modificarea nu se corelează cu starea clinică (Cochran și colab., 1976).

Lipsa standardizării metodelor de testare și în special a antigenelor tumorale stă la baza lipsei de reproductibilitate a acestor teste. În plus, nu s-au obținut corelații între răspunsul la antigenele tumorale și evoluția clinică. Amintim că atât timp cât nu se cunoaște natura antigenelor testate, pot să existe multe surse de eroare:

- antigenele pot fi tumorale specifice sau tisulare normale (specifice de țesut);
- antigenele pot fi supraadăugate — asociate unor agenți transmisibili (exemplu virusuri care se dezvoltă în celule tumorale);
- antigene HLA — în special în testările cu antigene alogene — față de care bolnavii pot fi sensibilizați (femei care au avut sarcini în antecedente sau persoane care au primit transfuzii);
- antigene care reprezintă componente intracelulare care nu constituie ținta unei reacții imune de citoliză, dar care pot sensibiliza bolnavul prin eliberarea lor din celulele lezate (prin moartea spontană a celulelor sau în urma actelor terapeutice: raze Röntgen, citostatice, chirurgicale).
- eterogenitatea celulelor dintr-o tumoare: proporția mare de celule necanceroase, eterogenitatea antigenică a subclonelor de celule maligne din aceeași tumoare, diferențele antigenice dintre tumoarea primară și metastaze;
- selecția unor subclone antigenic diferite prin imunoselecție sau prin terapie (Rx, citostatice).

24.2.2.3.

Teste de citotoxicitate

Prin testele de citotoxicitate este decelată funcția efectoră a limfocitelor bolnavului, capacitatea acestora de a distruge celulele tumorale (celulele țintă). Teoretic, aceste teste ar fi cele mai adecvate pentru aprecierea capacității de apărare imună față de tumoare. Practic însă, există dificultăți tehnice care limitează mult valoarea acestor teste. Pe lângă aspectele expuse deja la testarea răspunsului la antigenele tumorale, în aprecierea citotoxicității intervine necesitatea stringentă a testării pe celule țintă vii. Au fost utilizate celule tumorale izolate din tumori autoloage sau alogene, provenite din tumori similare de la alt bolnav sau din linii tumorale stabilizate (celule tumorale cultivate mult timp *in vitro*). Prin utilizarea celulelor țintă alogene se pot obține rezultate fals-pozitive determinate de antigenele de histocompatibilitate străine și nu de antigenele tumorale. În plus, testele de citotoxicitate care necesită un timp lung de incubare a amestecului limfocite-celule țintă pot să determine sensibilizarea limfocitelor *in vitro*, urmată de apariția celulelor efectoră citotoxice în decurs de 5—6 zile sau chiar 1—2 zile (Hellström și Hellström, 1976,

Treves și colab., 1976). Sensibilizarea *in vitro* se poate instala uneori chiar cu celulele țintă singene.

Utilizarea tumorilor autoloage, pe lângă faptul că este condiționată de actul chirurgical, ridică probleme tehnice (Herberman, 1974; UICC Technical Report, 1975, Perlman și colab., 1977):

a) culturile din explantele tumorale pot să conțină proporții variabile de celule tumorale. Frecvent conțin o proporție ridicată de celule normale sau de fibroblaste. În culturile de scurtă durată predominanța fibroblastelor normale este foarte frecventă. Chiar în cazul folosirii efuziunilor maligne (de exemplu lichidele pleurale în cancerul de sân), în cultură sînt greu de diferențiat celulele maligne de cele mezoteliale;

b) celulele proaspăt izolate din tumoare pot să fie acoperite de anticorpi care blochează activitatea citotoxică a limfocitelor Tc specifice (vezi Capitolul „Imunologie tumorală”). Deși poate să apară o reacție citotoxică determinată de celulele K și monocite, această reacție este de același ordin de mărime sau chiar mai mare la martorii sănătoși (care de asemenea posedă celule K și monocite);

c) testele de control trebuie să fie practicate pe celule normale din același țesut. Fibroblastele normale nu sînt un martor fidel, deoarece posedă alte antigene tisulare specifice. Din păcate, culturile de țesuturi normale sînt greu de obținut și adesea sînt constituite numai sau predominant din fibroblaste;

d) unele culturi de celule maligne (în special liniile stabilizate de origine limfoidă, ca de exemplu linia K-562) sînt deosebit de sensibile la acțiunea citotoxică a celulelor NK (vezi „Imunologia tumorilor”). Rezultatele obținute cu liniile celulare sensibile la NK pot fi mai mari la persoanele martore decît la bolnavii cu cancer. Deprimarea activității NK s-a observat, în general, în unele hemopatii maligne și în stadiile avansate ale tumorilor solide. Menționăm, însă, că atît la normali cît și la canceroși există o variabilitate mare individuală a nivelurilor activității NK.

Există trei tehnici principale de evaluare a citotoxicității, care au numeroase variante. Cu toate că cele 3 metode investighează aceleași elemente efectoare ale imunității celulare, se pare că de fapt oglindesc mecanisme efectoare diferite (UICC Technical Report 1975, Perlmann și colab., 1977).

24.2.2.3.1.

Tehnica inhibiției coloniilor (testul Hellström)

Tehnica inhibiției coloniilor (testul Hellström) poate fi realizată numai pe celule tumorale țintă, care pot fi cultivate *in vitro* și formează monostrat („monolayer” în engleză). Celulele tumorale izolate din monostrat sînt cultivate apoi în plăci Petri timp de 24 de ore (pentru a adera la suprafața plăcilor). Se adaugă apoi un număr mare de limfocite de la bolnavul testat, de obicei peste 10 000 de limfocite pentru fiecare celulă tumorală țintă (10 000:1). Comparativ, se utilizează o cultură de control, în care se introduce același număr de limfocite martore, provenite de la o persoană sănătoasă (fig. 24.16/A). După 3—7 zile de incubare (la 37°C în atmosferă de 5% CO₂ în 95% aer), se numără coloniile de celule tumorale care se dezvoltă în cultură. Testul este considerat pozitiv dacă numărul de colonii apărute în prezența limfocitelor testate este semnificativ mai mare decît numărul coloniilor apărute în prezența limfocitelor martor (fig. 24.16/A). Testul poate fi utilizat și

pentru evidențierea factorilor blocați din serul bolnavilor cu cancer (vezi capitolul „Imunologia tumorilor”).

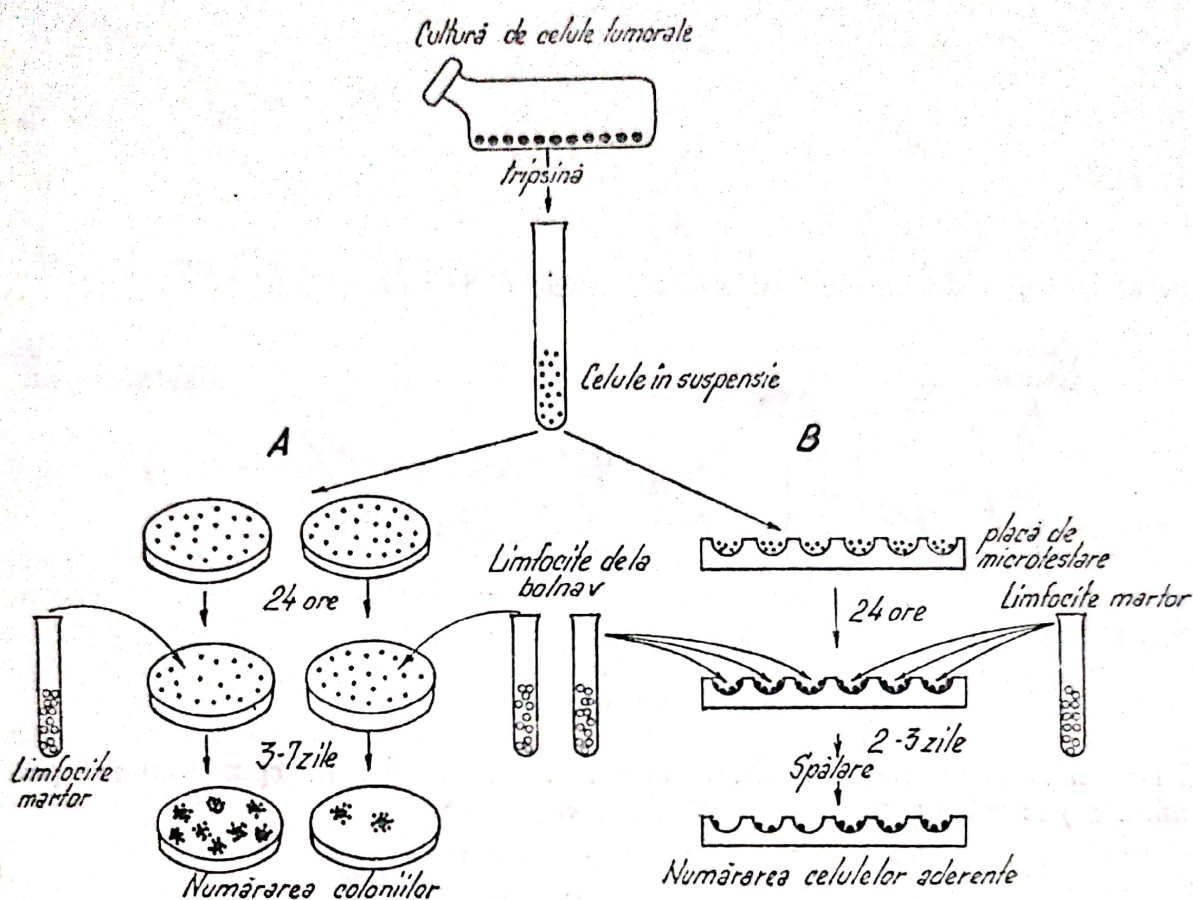


Fig. 24.16. — Principiul tehnicilor de testare a inhibiției coloniilor (A) și de microtoxicitate (B).

24.2.2.3.2.

Tehnica de microtoxicitate (Takasugi și Klein)

Tehnica de microtoxicitate (Takasugi și Klein) reprezintă, de fapt, o variantă a testului anterior (fig. 24.16/B). Deosebirea constă în faptul că este o micrometodă în care celulele tumorale sînt cultivate în godeurile mici (diametrul de 2 sau 7 mm) ale plăcilor de microculturi utilizate în testarea antigenelor de histocompatibilitate („Microtitration plates” sau „Microtest plates”). După 24 de ore, se adaugă un număr mai mic de limfocite (proportia optimă este de 1 000:1), iar aprecierea rezultatelor se face prin citirea numărului de celule rămase aderente de pereții godeurilor, după 2—3 zile de incubare (fig. 24.16/B). Avantajul metodei constă în numărul mic de celule țintă, respectiv limfocite, utilizate și în timpul mai scurt de incubare. Ambele teste evidențiază nu numai capacitatea citolică a celulelor efectoare, ci și capacitatea lor citostatică, inhibiția creșterii și aderenței celulelor tumorale. Rezultatele obținute sînt afectate însă de unii factori ca moartea spontană a celulelor tumorale sau stimularea creșterii acestor celule de către limfocite (în special atunci cînd raportul limfocite/celule tumorale este sub optim).

24.2.2.3.3.

Tehnica de citoliză sau de eliberare a radioizotopilor
(Cerottini și Brunner)

Spre deosebire de primele două metode, care apreciază atât efectul citolitic cât și citostatic al limfocitelor, această tehnică evidențiază exclusiv efectul citolitic. Pe scurt, celulele tumorale izolate sînt pretratate cu cromat de sodiu radioactiv (^{51}Cr). Acesta difuzează în interiorul celulei și aici se leagă de componentele citoplasmei, marcînd astfel radioactiv celula (fig. 24.17). Se amestecă apoi limfocitele bolnavului de cancer cu celulele tumorale astfel marcate (raport optim 100:1 sau 200:1) și se incubează timp de 4—6 ore. Limfocitele citolitice vor provoca apariția de leziuni ale membranelor, prin care va fi eliberat izotopul din celulele tumorale în mediul de cultură (fig. 24.17 și 24.19).

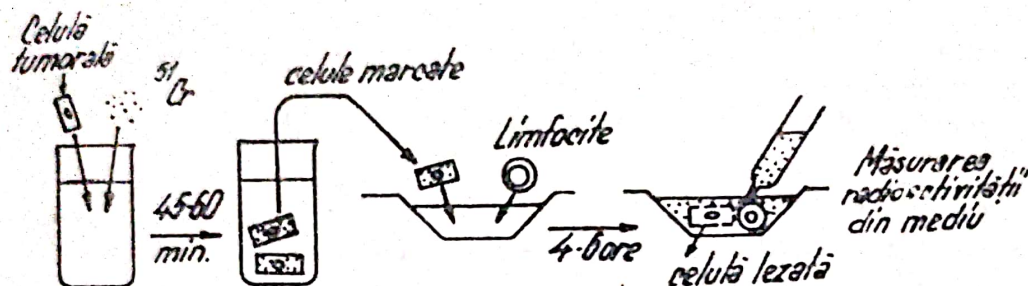


Fig. 24.17. — Schema tehnicii de testare a citotoxicității prin eliberarea izotopului radioactiv — crom 51 (^{51}Cr) — din celula tumorală în urma citolizei realizată de limfocite.

După măsurarea radioactivității mediului de cultură în cpm („counts per minute”) se calculează procentajul citolizei prin formula:

$$\text{Citoliză } \% = \frac{R \text{ în test} - RS}{RT - RS} \times 100$$

în care R în test reprezintă radioactivitatea supernatantelor (mediului de cultură) culturilor mixte de limfocite și celule țintă marcate; RS (radioactivitatea spontană) este radioactivitatea eliberată spontan în mediu prin simpla cultivare a celulelor țintă în lipsa limfocitelor; RT (radioactivitatea totală) obținută prin liza totală a celulelor țintă realizată prin îngheț-dezgheț sau detergenți (Triton X)*.

Această tehnică este larg utilizată datorită faptului că prezintă unele avantaje: nu este necesară o precultivare a celulelor tumorale (deci evită eventuala alterare antigenică), timpul de cocultivare limfocite-celule țintă este scurt (se evită sensibilizarea limfocitelor *in vitro*), numărul mic de limfocite necesar pentru testarea și măsurarea radioactivității, este obiectivă (evită subiectivismul testelor vizuale anterioare). În cazul unor niveluri reduse de citoliză, sau atunci când citoliza are loc numai după un timp mai lung de contact între limfocite-celule țintă (10—12 ore), nu se poate aplica această tehnică, datorită eliberării spontane prea mari a izotopului.

Deși testele *in vitro* de citotoxicitate au fost intens studiate experimental și la om, ele nu au intrat în practica de rutină a laboratoarelor clinice de

* Există mai multe formule de calculare a citolizei specifice. De exemplu, prin introducerea în formula de bază a citolizei realizată de limfocite de control (provenite de la martori sănătoși).

imunologie, datorită faptului că rezultatele publicate sînt foarte variabile și datorită lipsei de standardizare a tehnicilor. În general, aceste teste sînt pozitive la bolnavii cu tumori mici și devin negative la bolnavii cu tumori mari sau cu metastaze. În plus, există variații largi individuale ale nivelului citotoxicității și, din acest motiv, deși se pot descrie modificări în funcție de stadiul bolii pe un grup bine selecționat de bolnavi, aceste modificări nu sînt aplicabile în cazurile individuale (Perlmann și colab., 1977).

În plus, nu s-a putut dovedi încă valoarea diagnostică sau prognostică a acestor teste. Foarte recent însă, Vánky și colab. (1981—1983) au observat că există o corelație între activitatea citotoxică a limfocitelor bolnavului față de celulele din propria tumoare și supraviețuire în osteosarcom, sarcoame ale țesuturilor moi, tumori pulmonare și de colon.

24.2.2.4.

Teste serologice

24.2.2.4.1.

Teste de citotoxicitate cu anticorpi și complement

Aceste teste sînt utilizate în special pentru decelarea și identificarea antigenelor tumorale și mai rar pentru decelarea și aprecierea cantitativă a anticorpilor antitumorali. În principiu, dacă celulele tumorale țintă sînt incubate cu anticorpii antitumorali și complement, are loc citoliza (fig. 24.18). Pentru aprecierea citolizei se pot folosi 3 metode:

a) colorarea celulelor cu coloranți vitali (albastru tripan). Celulele vii nu se colorează (exclud colorantul), în timp ce celulele moarte sau cu leziuni ale membranei se colorează în albastru;

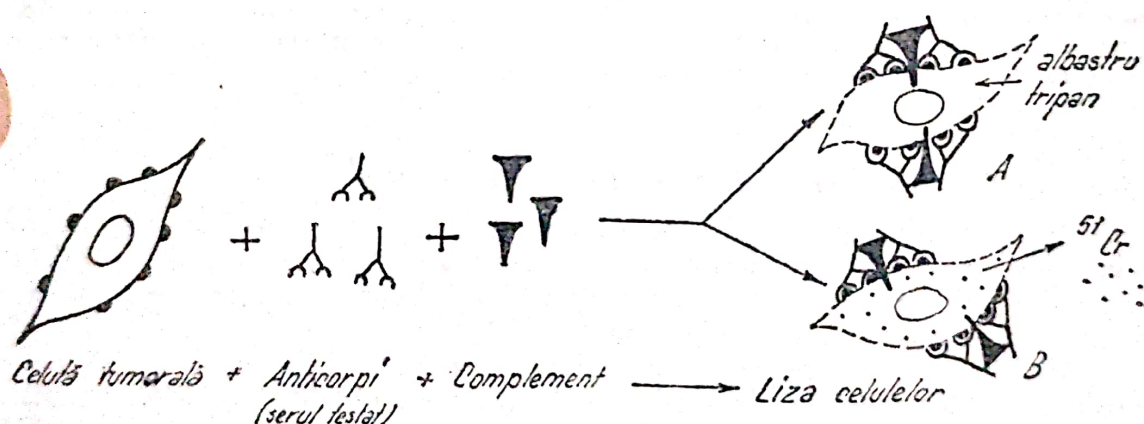


Fig. 24.18. — Reprezentarea schematică a citotoxicității mediată umoral (prin anticorpi și complement). Evidențierea lezării celulei tumorale se poate face cu ajutorul unui colorant vital ca de exemplu albastru tripan, care pătrunde în celulă (A) sau cu izotopi radioactivi (^{51}Cr) care ies din celulă (B). În al doilea procedeu celulele tumorale sînt în prealabil marcate cu izotop.

b) pierderea capacității celulelor de a adera la suprafețe (ca în testul de microtoxicitate);

c) eliberarea izotopilor radioactivi (^{51}Cr).

Ca sursă de anticorpi este utilizat serul bolnavului testat, iar ca sursă de complement, ser proaspăt: uman, de iepure sau de cobai. Apariția citolizei denotă prezența anticorpilor antitumorali în serul bolnavului testat.

O tehnică similară este folosită pentru evidențierea citotoxicității celulare dependentă de anticorpi — ADCC — realizată de celulele K, monocite, macrofage, polimorfonucleare (vezi capitolul „Imunologia tumorală”). În testare se poate utiliza o mare varietate de celule țintă: celule normale sau tumorale, umane sau de animale. Cel mai frecvent folosite sînt

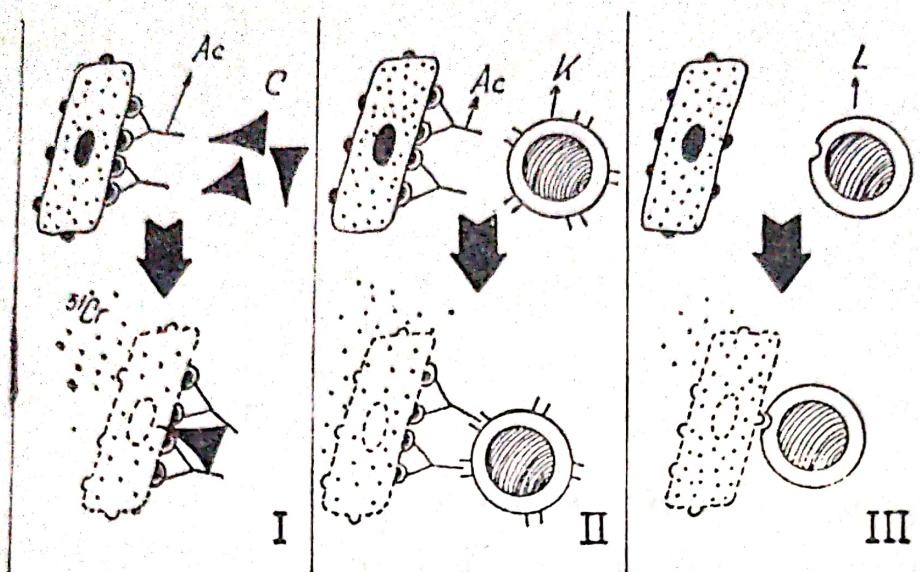


Fig. 24.19. — Schema comparativă a celor 3 tipuri principale de citotoxicitate puse în evidență cu ajutorul izotopilor radioactivi (ex. ^{51}Cr). I. Citotoxicitatea prin anticorpi (Ac) și complement (C). II. Citotoxicitatea celulară dependentă de anticorpi (ADCC) realizată de celule K (sau macrofage). III. Citotoxicitatea celulară directă realizată de limfocite T sau celule NK (I. Georgely, 1979, modificat).

celulele hepatice Chang, insensibile la celulele NK. Anticorpii specifici sînt obținuți de la animalele imunizate cu aceste celule țintă. După incubarea celulelor țintă cu anticorpii specifici eterologi și cu celulele efectoare provenite de la bolnav (limfocite sau monocite), se apreciază citoliza printr-una din metodele deja descrise (fig. 24.19).

24.2.2.4.2.

Testarea fixării anticorpilor specifici pe celulele tumorale

Fixarea anticorpilor serici pe celule maligne a fost utilizată în scopul evidențierii anticorpilor necitotoxici antitumorali (Fairley și colab., 1971). În ultimii ani, autoanticorpii de acest tip sînt folosiți în special pentru identificarea antigenelor tumorale umane (Old, 1981).

Testarea se poate realiza prin mai multe metode care vizualizează anticorpii legați de celule: tehnici de imunofluorescență, radioimune — RIA („Radio-Immuno-Assay”) sau imunoenzimatică — EIA („Enzyme-Immuno-Assay”). Cele mai larg utilizate au fost tehnicile de imunofluorescență. Deoarece s-a constatat că densitatea antigenelor tumorale de pe suprafața celulelor maligne este mică, este folosită în special tehnica indirectă, care poate decela și cantități mai mici de antigene — de ordinul a 10^2 — 10^3 de celulă (fig. 24.4 și fig. 24.20).

În principiu, celulele tumorale se incubează cu serul provenit de la bolnavul testat (15—30 de minute la 20°C), apoi, după spălarea imunoglobulinelor nefixate pe celulă se tratează cu anticorpi antiimunoglobulină umană marcați cu o substanță fluorescentă (fluoresceină sau rodamină). După spălarea excesului de anticorpi se citește fluorescența celulelor tumorale la microscopul de fluorescență (fig. 24.20). Fluorescența celulelor denotă existența

celor trei reactanți: antigenul tumoral, anticorpul față de acest antigen (din serul bolnavului) și anticorpul marcat antiimunoglobuline umane (fig. 24.4).

Se preferă testarea pe celulele tumorale autoloage, deoarece celulele tumorale alogene, chiar dacă sînt de același tip, pot furniza rezultate fals-pozitive.

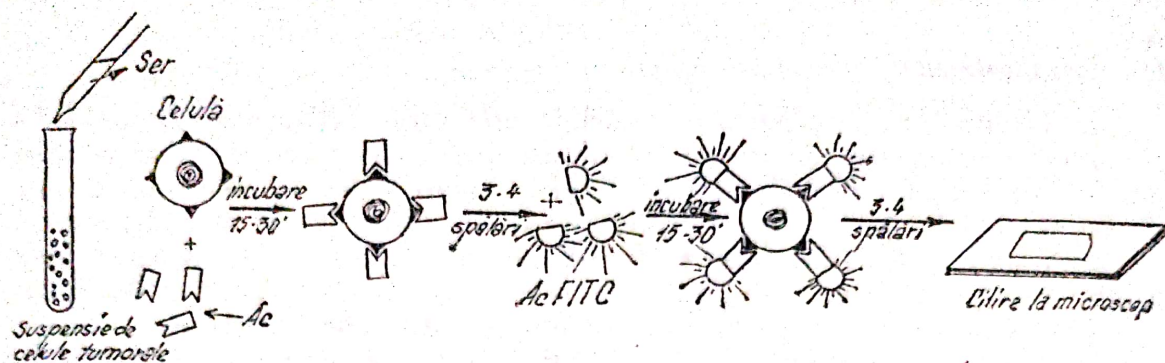


Fig. 24.20. — Tehnica decelării anticorpilor antitumorali prin imuno-fluorescență indirectă. Ac = anticorpi anticelule tumorale; AcFITC = anticorpi antiimunoglobuline umane, marcați cu fluoresceină.

tive (prin contribuția aloanticorpilor față de antigenele de histocompatibilitate sau de grup sangvin). Celulele cultivate *in vitro* (culturi de scurtă durată) dau rezultate superioare celulelor proaspăt izolate din tumori (Old, 1981).

Tehnicile de decelare a anticorpilor prin fluorescență prezintă două dezavantaje majore: sînt subiective și numai calitative. În prezent există metode perfecționate obiective și cantitative: radioimune și imunoenzimatice. În principiu, tehnica este similară cu deosebirea că anticorpul anti-imunoglobulină umană utilizați pentru vizualizarea reacției nu sînt marcați cu fluorocrom, ci cu izotopi radioactivi, respectiv cu enzime.

În tehnicile radioimune marcarea se obține cu o substanță radioactivă, de obicei iod radioactiv (^{125}I). Aprecierea cantitativă a legăturii anticorpilor marcați se face prin determinarea radioactivității celulelor. Metoda permite și localizarea antigenelor tumorale pe celulă prin autoradiografie. Se fac frotiuri care se acoperă cu hîrtie sau emulsie fotografică. La locul fixării anticorpilor marcați, izotopul radioactiv va impresiona hîrtia fotografică și astfel vor apărea granule mici negre, care se pot vedea la microscop.

În tehnicile imunoenzimatice marcarea anticorpilor anti-imunoglobulină umană este obținută prin cuplarea acestora cu o enzimă (de exemplu peroxidaza din hrean, fosfataza alcalină, lizozim sau glucozo-6-fosfat dehidrogenază). Se poate determina astfel cantitatea de anticorpi fixați pe celule prin evidențierea reacției enzimatic catalizată de enzima cuplată cu acești anticorpi (fig. 24.23).

Indiferent de tehnica utilizată în testarea fixării anticorpilor pe celulele tumorale, trebuie să se folosească concomitent teste de control care să demonstreze specificitatea reacției, adică faptul că anticorpul fixat sînt dirijați împotriva antigenelor tumorale.

În cazul tehnicii de imunofluorescență, testele de control cuprind:

- testarea serului bolnavului pe celule normale, ale aceluiași țesut, pentru a se vedea dacă anticorpul nu sînt dirijați împotriva unor antigene tisulare normale;
- testarea comparativă a celulelor tumorale cu un ser martor pentru a se evidenția posibilitatea legării nespecifice a imunoglobulinelor. În general, celulele tumorale moarte sînt capabile să fixeze nespecific imunoglobulinele. Din acest motiv, se preferă utilizarea celulelor vii;
- testarea cu anticorpi anti-imunoglobulină umană nemarcați cu fluoresceină, pentru a se vedea dacă celulele tumorale posedă sau nu fluorescență spontană;
- testarea serului bolnavului cu celule tumorale de alt tip, pentru a se decela reacțiile încrucișate date în special de anticorpul antiantigene onco-fetale.

Reacțiile de fixare pot fi fals-pozitive datorită legării imunoglobulinelor din serul bolnavului de receptorii Fc (care există uneori pe membrana celulelor tumorale). În sfârșit, trebuie să menționăm faptul că uneori fluorocromul (liber sau conjugat) se poate lega nespecific de celule sau de proteine.

24.2.2.4.3.

Decelarea antigenelor tumorale solubile

În ultimii ani, aprecierea nivelurilor anumitor antigene tumorale solubile a devenit un test de rutină în clinica oncologică. Aceste antigene, produse de celulele tumorale și eliberate în circulație, pot fi decelate în serurile bolnavilor cu ajutorul anticorpilor specifici, anticorpi eterologi convenționali sau monoclonali. Anticorpii sînt obținuți prin imunizarea animalelor cu antigenele corespunzătoare. Din antigenele investigate în scop de imunodiagnostic și prognostic, cele mai larg utilizate sînt antigenele fetale: antigenul carcinoembrionar (CEA), alfa-fetoproteina (AFP) și alfa-2H-feroglobulina (alfa-2H-Fe) (tabelul 24.VI).

TABELUL 24.VI

ANTIGENELE SOLUBILE UTILIZATE ÎN IMUNODIAGNOSTICUL SAU PROGNOSTICUL CANCERELOR UMANE (HERBERMAN 1976 MODIFICAT)

1. *Antigene fetale:*

- a) antigenul carcinoembrionar (CEA și CEA-s)
- b) alfa-fetoproteina (AFP)
- c) alfa-2H-feroglobulina (ferritina?) (H de la hepatic)
- d) gamma-fetoproteinele
- e) antigenul onco-fetal pancreatic
- f) Alte antigene: antigenul polipeptidic tisular (TPA), antigenul Tennessee (TAG), etc.

2. *Hormoni:*

- a) gonadotrofina corionică umană (HCG)
- b) lactogen placentar uman (HPL)
- c) parathormon
- d) ACTH „mare“
- e) calcitonina

3. *Altele:*

- a) globulina-T Tal
- b) izoenzima Regan a fosfatazei alcaline
- c) antigene virus-asociate (v. Epstein-Barr, herpes etc.)
- d) caseina
- e) alte antigene: Ca, CA 19-9 (cancere gastrointestinale), CA-125 (carcinom ovarian) etc.

În general, testarea acestor antigene fetale nu este utilă în scopul depistării în masă a cancerului, deoarece pe de o parte există persoane normale, sau cu boli necanceroase, la care există niveluri ridicate ale acestor antigene, iar pe de altă parte nu toate tumorile maligne produc aceste antigene, nici chiar în localizările predilecte. Testarea s-a dovedit însă foarte utilă în diagnosticul și prognosticul cancerului în următoarele situații:

a) existența nivelurilor mari preoperatorii ale acestor antigene este un semn de gravitate a bolii, în sensul că sugerează prezența unor mase mari tumorale sau a metastazelor;

b) persistența nivelurilor crescute postoperatorii este un indicator prognostic grav; fie că tumoarea nu a fost rezecată complet (boală reziduală), fie că există deja metastaze;

c) apariția unor niveluri crescute postoperatorii obținute constant la două testări consecutive, reprezintă un semn de recidivă (semn ce precede cu aproximativ o lună apariția simptomelor clinice);

d) urmărirea acestor antigene în cursul radio- și chimioterapiei este utilă în decelarea bolii reziduale, a recidivelor sau a rezistenței tumorii la terapia aplicată.

În prezent, pentru testare se utilizează metode imunochimice foarte sensibile, capabile să deceleze cantități extrem de mici de antigen de ordinul nanogramelor ($1 \text{ ng} = 10^{-9} \text{ g}$) sau picogramelor ($1 \text{ pg} = 10^{-12} \text{ g}$). Deși foarte costisitoare, aceste metode au înlocuit în mare măsură metodele imunologice clasice mai puțin sensibile, ca difuzia dublă Ouchterlony, contraimuno-electroforeza sau hemaglutinarea pasivă (tabelul 24.VII).

TABELUL 24.VII

SENSIBILITATEA METODELOR IMUNOCHIMICE

(„DICTIONAR ENCICLOPEDIC DE IMUNOLOGIE” SUB RED. MORARU ȘI PĂUNESCU)

Metoda	Sensibilitatea aproximativă ($\mu\text{g/ml}$)
Imuno-precipitare	
— testul inelului	20—30
— precipitare cantitativă	10
Imuno-difuzie	
— simplă în gel	10—100
— dublă în gel (Ouchterlony)	40
— radială	10
Imuno-electroforeza	100
Imuno-electroforeza în rachetă (Laurell)	<5
Contraimuno-electroforeza	20—30
Imuno-enzimatică (EIA)	< 0,001
Radio-imună (RIA)	< 0,001

În dozarea cantităților de antigene solubile sînt larg folosite tehnicile radioimune (RIA — „Radio-Immuno-Assay”) și imuno-enzimatice (EIA — „Enzyme Immuno Assay”) sau ELISA („Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay”). În ambele tehnici, pentru aprecierea cantitativă a reacției dintre antigen și anticorp se marchează unul dintre reactanți (fie antigenul, fie anticorpul) cu markeri care nu modifică reacția imună. În tehnicile RIA, markerul este un izotop radioactiv, de obicei izotopii iodului: ^{125}I , ^{131}I , mai rar ^3H , ^{14}C , ^{22}Na , ^{57}Co . În EIA, markerul este o enzimă, mai frecvent peroxidaza de hrean (HRP), fosfataza alcalină, mai rar lizozimul, glucozo-6-fosfat dehidrogenaza sau beta-galactozidaza.

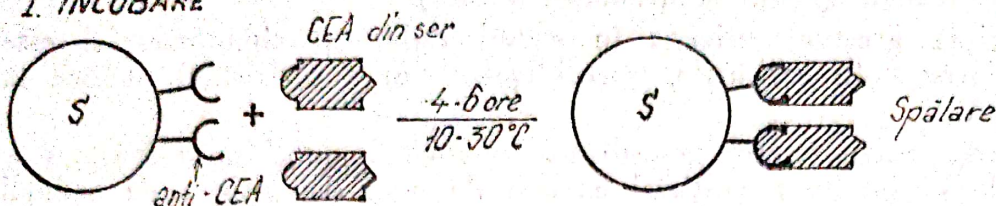
24.2.2.4.3.1.

Tehnica radioimună — RIA

Există numeroase variante ale RIA, unele în fază lichidă, cînd ambii reactanți sînt solubili și altele în fază solidă, cînd unul din reactanți (fie antigenul, fie anticorpul) sînt în prealabil fixați pe un suport solid (prin

adsorbție pe un imunosorbent-RIST). Deoarece în prezent există kit-uri speciale conținând întregul set de reactivi necesari pentru dozarea CEA și AFP, vor fi descrise numai principiile tehnicilor în fază solidă. Pentru exemplificare, va fi folosită dozarea CEA, dar principiul este valabil și pentru alte antigene.

I. INCUBARE



II. INCUBARE

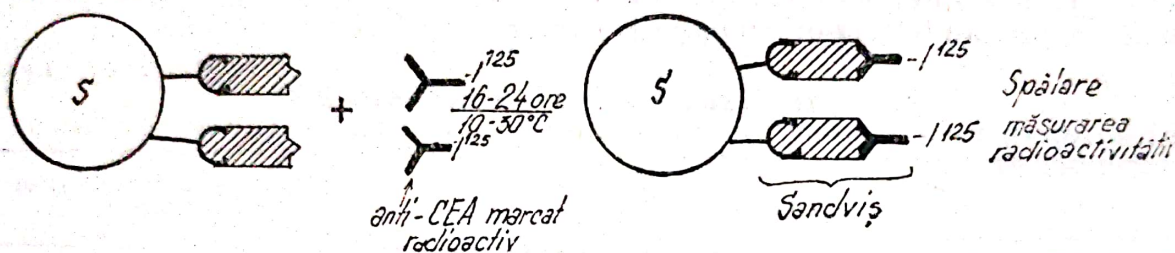


Fig. 24.21. — Principiul tehnicii RIA metoda directă realizată în 2 timpi. S = suport solid din material plastic (polistiren). În figură o mărgea (perlă) de polistiren acoperită de anticorpi anti-CEA. La naștere un sandviș format din 2 straturi de anticorpi (anti-CEA), între care se află antigenul (CEA). Pentru evitarea reacțiilor nespecifice se utilizează pentru cele 2 straturi anticorpi proveniți de la specii animale diferite. De exemplu, anticorpii fixați pe suportul solid sînt de cobai, iar anticorpii marcați radioactiv (cu ^{125}I) sînt de capră.

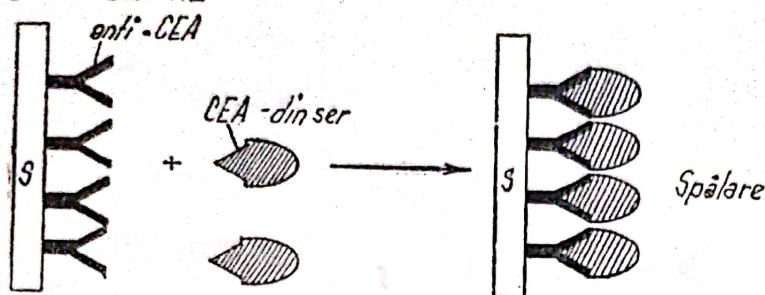
Testarea în fază solidă se poate realiza prin două metode: una în care se folosesc anticorpi anti-CEA marcați radioactiv — metoda directă — și a doua, în care CEA (deci antigenul) este marcată radioactiv — metoda competitivă.

Metoda directă folosește în principiu tehnica în sandviș, adică cu 3 reactanți; anticorpi — antigen — anticorpi (fig. 24.21). În acest scop, anticorpii anti-CEA sînt în prealabil fixați pe un suport solid (pereții eprubetelor de testare, mărgelile sau discuri de plastic). Anticorpii astfel fixați sînt incubati cu serul bolnavului testat. Dacă în ser există CEA, acesta va fi legat de anticorpii anti-CEA. După spălare complexul anticorpi-CEA este incubat din nou cu anticorpi anti-CEA, care de această dată sînt marcați cu un izotop radioactiv (^{125}I). Anticorpii radioactivi se leagă de CEA și formează astfel un sandviș: anticorpi, CEA, anticorpi radioactivi (fig. 24.21). După spălare, se măsoară radioactivitatea acestui sandviș fixat de suportul solid (în impulsuri per minut — cpm). Radioactivitatea este proporțională cu cantitatea de CEA existentă în serul bolnavului. Calcularea se face după o curbă de etalonare executată concomitent, în care se folosesc în locul serului bolnavului seruri standard cu cantități de CEA cunoscute (1; 2,5; 5; 20; 100 ng/ml).

Metoda competitivă. În această metodă, antigenul este marcat radioactiv. În principiu, metoda folosește competiția dintre CEA din serul bolna-

vului și CEA marcat radioactiv pentru ocuparea zonelor de legare a anticorpilor (fig. 24.22). Datorită faptului că CEA din serul testat „ocupă” parțial anticorpul anti-CEA, la cea de a doua incubare, cu CEA radioactiv, acesta se poate lega numai de anticorpul rămas liber. Radioactivitatea din

I INCUBARE



II INCUBARE

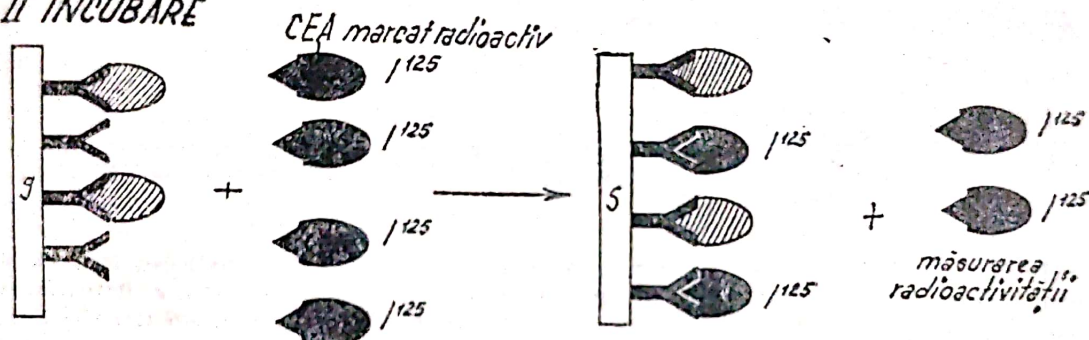


Fig. 24.22. — Schema tehnicii RIA prin metoda competitivă. Se realizează tot în 2 etape, folosindu-se numai un strat de anticorpi fixați pe un suport solid. Se determină radioactivitatea excesului de CEA marcat cu izotop (I^{125}) din supernatant. Acesta nu s-a legat de anticorpul anti-CEA datorită faptului că anticorpul este „ocupat” de CEA din serul bolnavului. S = suport solid, în figură disc din material plastic.

supernatant este deci proporțională cu cantitatea de CEA din serul bolnavului, iar radioactivitatea de pe suportul solid este invers proporțională cu CEA din ser. Și în această metodă, pentru calculare se folosesc seruri standard, cu cantități cunoscute de CEA.

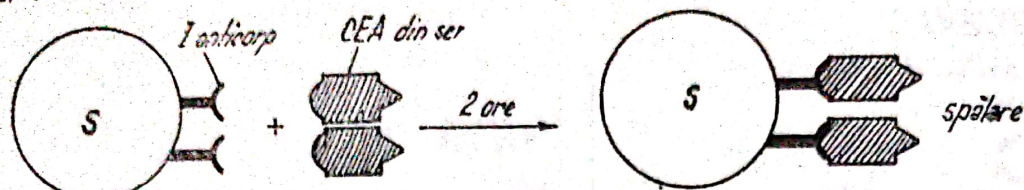
24.2.2.4.3.2.

Tehnica imunoenzimatică (EIA sau ELISA)

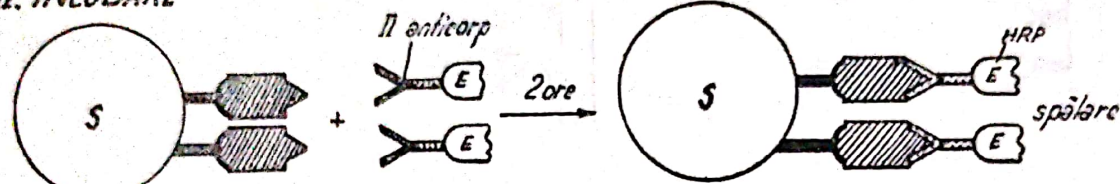
Tehnica imunoenzimatică (EIA sau ELISA) este o tehnică similară cu metoda RIA directă respectiv RIST. Folosește de asemenea principiul în sandwich, cu deosebirea că al doilea anticorp, anti-CEA, este marcat cu o enzimă, de exemplu cu peroxidaza de hrean (fig. 24.23). Se incubează anticorpul fixat pe suportul solid, cu serul de testat pentru formarea complexului anticorpi-CEA. După spălare, se incubează cu anticorpi marcați cu enzimă — HRP (Horse Radish Peroxidase). Se formează sandwichul anticorpi-CEA-anticorpi-enzimă. În a treia etapă are loc reacția enzimatică prin adăugarea substratului enzimei. Cantitatea de produși rezultați din reacția enzimatică este propor-

țională cu cantitatea de enzimă existentă, deci cu cantitatea de CEA din serul bolnavului (fig. 24.21). Pentru unii autori, tehnicile RIA sînt mai sensibile decît ELISA. Totuși, pe lîngă faptul că prin ELISA se pot determina

I. INCUBARE



II. INCUBARE



III. INCUBARE - Reacție enzimatică

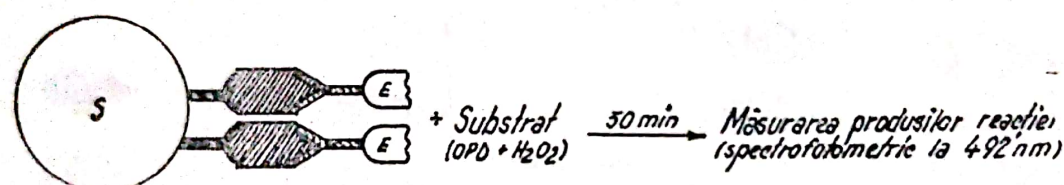


Fig. 24.23. — Tehnica imuno-enzimatică (EIA sau ELISA). Se realizează în 3 etape, folosindu-se 2 straturi de anticorpi: unul fixat de un suport solid (S), al doilea anticorp cuplat cu o enzimă (E). În figură enzima este peroxidaza de hrean (HRP). După a treia incubare, cu substratul enzimei, se măsoară produșii de reacție. OPD = orto-fenilendiamină, H_2O_2 = apă oxigenată.

cantități foarte mici de antigen (pînă la 1 ng/ml), această tehnică are și avantaje care determină utilizarea ei din ce în ce mai largă:

— nu necesită echipament tehnic costisitor (dozimetre, instalații de protecție pentru radiații etc.);

— reactivii sînt stabili, spre deosebire de cei utilizați în RIA, care depind de timpul de înjumătățire a izotopului (^{125}I are 60 de zile, ^{131}I doar 8 zile);

— reacțiile pot fi automatizate;

— nu este periculoasă (pericolul iradierii este inexistent).

În ultimii ani, tehnicile radioimune au început să fie utilizate pentru decelarea și localizarea cancerului *in vivo*. Primele cercetări experimentale ale lui Pressman și Bale (1949, respectiv 1958) au furnizat datele necesare pentru introducerea acestei metode în clinică. În prezent se studiază utilizarea anticorpilor anti-CEA sau anti-AFP marcați radioactiv pentru decelarea radioimună a cancerelor asimptomatice, pentru localizarea tumorilor și metastazelor, pentru monitorizarea terapiei și chiar în scop terapeutic (UICC Workshop, 1980). Tehnicile utilizate sînt încă extrem de costisitoare, deoarece necesită un echipament de decelare foarte pretențios și o aparatură complicată de tomografie cu baleiaj.

Bibliografie

GENERALĂ (TESTE IMUNOLOGICE)

- AIUTI F., CEROTTINI J. D., COOMBS R. R. A. și colab. — *Scand. J. Immunol.*, 1974, 3, 521—532.
- BACH J. F. (sub redacția) — *Immunologie*, Ed. Flammarion, Paris, 1976.
- FRIEMEL H. — *Immunologische Arbeitsmethoden*, Ed. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 1980.
- FUDENBERG H. H., STITES D. P., CALDWELL J. L., WELLS J. V. — *Basic & Clinical Immunology*, Lange Medical Public., ed. a III-a, 1980, cap. 26 și 27.
- GHEȚIE V., MICUȘAN V. — *Analiza imunochimică*, Ed. Acad. R.S.R., 1966.
- HUDSON L., HAY F. C. — *Practical Immunology*, Ed. Blackwell Sci. Public., Oxford, 1976.
- WEIR D. M. (sub redacția) — *Handbook of Experimental Immunology*, Ed. Blackwell Sci. Public., ed. I, 1976; ed. a III-a, 1978.

IN CANCER

- * * * — ACS-NCI National Conference of Virology and Immunology in human cancer — *Cancer*, 1974, 34, 1 452—1 520.
- * * * — ACS-NCI National Conference on Advances in Cancer Management. Part. II. Detection and diagnosis, *Cancer*, 1976, 37, 542—572.
- CATALONA W. J., CHRETIEN P. B. — *Cancer*, 1973, 31, 353—356.
- CHIRICUȚĂ I., MUREȘIAN T., SIMU G., IONESCU D., TODORUȚIU C. — *Oncologia (Buc.)*, 1971, 10, 233—244.
- CHIRICUȚĂ I., IONESCU D., MUREȘIAN T. — *Arch. Geschwulstforsch.*, 1972, 40, 159—164.
- CHIRICUȚĂ I., TODORUȚIU C., CRIȘAN M. — Aspecte imunologice în clinica cancerului mamar; posibilitatea unui tratament imunologic, în: „Cancerul sinului — Experiența românească”, sub redacția: Chiricuță I. *Enciclopedia Oncologică*, vol. 7, 1981, p. 571—582.
- CRIȘAN M. — Colaborarea laborator-clinică în urmărirea tratamentului cu citostatice, în: „Cancerul — chimioterapie”, sub redacția: I. Chiricuță, *Caiete documentare*, vol. 3, 1978, p. 204—218.
- CRIȘAN M. — Scăderea limfocitelor T în cancerul mamar, *Oncologia (Buc.)*, 1980, 19, 259—266.
- CRIȘAN M. — Explorări imunologice în limfoame și leucemii. În: „Hemopatii maligne”, *Enciclopedia Oncologică*, vol. 10, cap. 7, 1982, p. 76—117.
- DEEGAN M. J., COULTHART S. W. — *Cancer*, 1977, 39, 2 137—2 141.
- DELLON A., POTVIN C., CHRETIEN P. B. — *Cancer*, 1975, 35, 687—694.
- EGAN M. L., ENGVALL E., RUOSLAHTI E. I., TODD C. W. — *Cancer*, 1977, 40, 458—466.
- EILBER F. R., NIZZE J. A., MORTON D. L. — *Cancer*, 1975, 35, 660—665.
- EVANS J. T., GOLDROSEN M. H., HAN T. și colab. — *Cancer*, 1977, 40, 2 716—2 725.
- FUDENBERG H. H., WYBRAN J., ROBBINS D. — *New Engl. J. Med.*, 1975, 292, 475—476.
- GOLUB S. H., O'CONNELL T. X., MORTON D. L. — *Cancer Res.*, 1974, 34, 1 833—1 837.
- GROSS R. L., LATTY A., WILLIAMS E. A., NEWBERNE P. M. — *New Engl. J. Med.*, 1975, 292, 439—443.
- HAIM N., OBEDEANU N., MESHULAM T., ROBINSON E., SCHREIBER H., MERZBACH D. — *Cancer*, 1977, 40, 2 273—2 277.
- HANCOCK B. W., BRUCE L., RICHMOND J. — *Brit. J. Cancer*, 1976, 33, 496—500.
- HARRIS J. E., SINKOVICS J. G. — *The immunology of malignant disease*, Ed. C. V. Mosby Comp., 1970.
- HARRIS J., SENGAR D., STEWART T., HYSLOP D. — *Cancer*, 1976, 37, 1 058—1 069.
- HELLSTRÖM K. E., HELLSSTRÖM I. — Lymphocyte-mediated cytotoxicity and blocking serum activity to tumour antigens. In “Advances in Immunology”, sub red. F. J. Dixon și H. G. Kunkel, vol. 18, Academic Press, New York, 1974, p. 209—277.
- HENON P., GEROTA I., PALACIOS S. — *Biomedicine*, 1977, 27, 261—266.
- HERBERMAN R. B. — Cell-mediated immunity to tumour cells, in: “Advances in Cancer Research”, sub redacția: G. Klein și S. Weinhouse, vol. 19, Academic Press, New York, 1974, p. 207—263.
- HERBERMAN R. B. — *Cancer*, 1976, 37, 549—562.
- HERBERMAN R. B. — *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 1979, 9, 467—473.
- * * * — International Conference on Immunobiology of cancer, sub red. H. Friedman și C. Southam, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1976, 276, p. 1—591.

Manifestări și sindroame paraneoplazice

I. CHIRICUȚĂ • T. H. GAVRILESCU

Cuprins

- 25.1. Manifestări endocrinologice paraneoplazice (T. H. Gavrilescu) — 747
 - 25.1.1. Sindromul hormonului adrenocorticotrop (ACTH) ectopic — 749
 - 25.1.2. Sindromul secreției neadequate de hormon antidiuretic (HAD) — 751
 - 25.1.3. Hipercalcemia — 754
 - 25.1.4. Hipocalcemia — 755
 - 25.1.5. Sindroame prin producere ectopică de gonadotrofine — 756
 - 25.1.6. Producția ectopică a altor like-hormoni hipofizari — 757
 - 25.1.7. Hipoglicemia paraneoplazică — 757
- 25.2. Manifestări hematologice ale malignității (I. Chiricuță) — 758
 - 25.2.1. Eritrocitoza — 758
 - 25.2.2. Anemia — 758
 - 25.2.3. Granulocitoza — 759
 - 25.2.4. Granulocitopenia — 759
 - 25.2.5. Eozinofilia și bazofilia — 759
 - 25.2.6. Trombocitoza — 759
 - 25.2.7. Trombocitopenia — 759
 - 25.2.8. Coagularea intravasculară diseminată — 760
- 25.3. Manifestări renale ale malignității (I. Chiricuță) — 761
- 25.4. Leziuni paraneoplazice ale pielii (I. Chiricuță) — 761
- 25.5. Sindroame paraneoplazice gastrointestinale (I. Chiricuță) — 765
- 25.6. Diverse sindroame paraneoplazice (I. Chiricuță) — 766
 - 25.6.1. Sindromul febril paraneoplazic — 766
 - 25.6.2. Acidoza lactică — 766
 - 25.6.3. Hiperlipemia — 766
 - 25.6.4. Hiperamilazemia — 766
 - 25.6.5. Amiloidoza — 766
 - 25.6.6. Manifestări alergice — 766

Manifestările biologice și clinice nespecifice apărute la bolnavii cu cancer, la distanță de tumoarea primară sau de metastaze sînt numite sindroame paraneoplazice. Aceste tulburări nu sînt determinate de acțiunea directă, locală a tumorii primare sau metastazelor, dar reprezintă un „martor“ al existenței tumorii, putînd să preceadă sau să coexiste cu apariția și evoluția unui cancer.

Frecvența reală a manifestărilor paraneoplazice este greu de apreciat, deoarece unii din produșii sintetizați de tumori nu sînt identificați în determinările de rutină făcute bolnavilor neoplazici, iar multe din manifestările

clinice nu sînt recunoscute de clinician sau nu sînt suficient de caracteristice pentru a fi sesizate ca atare.

Importanța teoretică și practică a acestei probleme este scoasă în evidență de următoarele aspecte (Minna și Bunn, 1982):

1. Apariția unui sindrom paraneoplazic poate fi primul semn al unui cancer, atrăgînd atenția asupra acestuia și eventual permițînd un diagnostic precoce.

2. Nerecunoașterea naturii paraneoplazice a unor noi simptome apărute în tabloul clinic al unui cancer poate să ducă la interpretarea eronată a acestora, considerîndu-le o consecință a diseminării bolii. Această interpretare influențează atitudinea terapeutică, ducînd la abandonarea unor intenții curative.

3. Pe de altă parte, etichetarea ca sindrom paraneoplazic a ceea ce este de fapt apariția metastazelor sau a unei complicații (de tip infecțios, de exemplu) este o altă sursă de eroare în atitudinea terapeutică.

4. Unele polipeptide secretate de tumoare (ACTH, gonadotrofine etc.) pot să fie markeri tumorali, cu valoare practică în urmărirea evoluției bolii sau a eficienței tratamentului.

5. Există situații în care sindromul paraneoplazic datorit metastazelor este dominant în tabloul clinic, iar tratamentul acestuia reprezintă de fapt cel mai eficient tratament paliativ al cancerului.

6. Cercetarea substanțelor produse de tumori are importanță fundamentală în biologia cancerului, prin prisma ipotezei ca aceste substanțe să reprezinte factori de creștere care „autostimulează” proliferarea tumorală.

Patogenie. Substratul patogen al multor sindroame paraneoplazice este producerea unor polipeptide cu activitate biologică asemănătoare sau identică cu a unor hormoni. Tot în această ordine de idei menționăm capacitatea unor tumori de a produce prostaglandine, imunoglobuline, enzime sau proteine fetale (antigenul carcino-embrionar etc.).

Minna și Bunn (1982) menționează celelalte posibilități patologice ale sindroamelor neoplazice:

— modificări ale imunității (autoagresiune, producerea de complexe imune, imunodepresie);

— producerea unor „receptori ectopici” sau blocarea receptorilor obișnuiți prin ocuparea competitivă a acestor receptori de către like-hormoni biologic inactivi, produși de tumoare;

— mecanismul de „contact interzis”, prin care tumoarea realizează prin invazie și vascularizație anormală, posibilitatea eliberării în circulația sanguină a unor enzime (de exemplu, fosfataza alcalină placentară) sau alte substanțe care determină fenomene toxice sau declanșează mecanisme fiziopatologice;

— cauze necunoscute.

Diagnostic diferențial. Prin definiție, pentru susținerea diagnosticului de sindrom paraneoplazic este necesară excluderea posibilității apariției acestor manifestări:

— ca o complicație în evoluția naturală a cancerului (tumoare primară, metastaze): stenoza, obstrucție, hemoragii etc.;

— ca o complicație de tip infecțios sau hidroelectrolitic a unui cancer avansat sau

— ca efect toxic secundar al tratamentului (în special cu citostatice).

Considerînd că în multe situații fenomenele paraneoplazice sînt numai „manifestări” care nu iau aspectul unui adevărat sindrom, vom utiliza următoarea sistematizare a acestora:

1. manifestări endocrinologice paraneoplazice;
2. manifestări neurologice ale malignității;
3. manifestări hematologice ale malignității;
4. manifestări renale ale malignității;
5. leziuni paraneoplazice ale pielii;
6. sindroame paraneoplazice gastrointestinale;
7. diverse sindroame paraneoplazice.

25.1.

Manifestări endocrinologice paraneoplazice

Proprietatea unor tumori neendocrine de a produce hormoni care să determine în mod secundar sindroame clinice paraneoplazice este de mult cunoscută. În ultimul timp s-au întreprins studii clinice și cercetări de laborator bazate pe dozări radio-imunologice, cu scopul de a efectua un screening al tumorilor înzestrate cu capacitatea de a produce hormoni (Gropp și colab., 1980; Hansen și colab., 1980; Odell și colab., 1979).

Aceste cercetări au stabilit faptul că numărul cazurilor cu secreție ectopică de hormoni este mult mai frecvent decît al cazurilor la care acest exces hormonal se manifestă clinic. Absența manifestărilor clinice se datorește faptului că tumoarea produce de multe ori prohormoni, care sînt asemănători biochimic și antigenic hormonului natural (like-hormon), dar care sînt biologic inactivi.

Există deci două aspecte importante:

a) Posibilitatea frecventă ca anumite tumori să producă substanțe atît de asemănătoare cu hormonii naturali, încît să fie dozate prin aceleași metode radio-imunologice, deoarece au aceleași proprietăți imuno-reactive, dar sînt inactive sau cu activitate redusă biologic (like-hormoni).

b) Posibilitatea mult mai restrînsă ca tumoarea să producă substanțe care au și proprietățile biologice ale hormonului natural; este de fapt o producție hormonală activă, care determină un exces hormonal real, cu apariția unui sindrom clinic caracteristic.

c) A treia posibilitate, intermediară între primele două, este ca tumoarea să producă un prohormon inactiv biologic, care să fie transformat în organism în produsul activ, asemănător cu hormonul natural (Silman și colab., 1978).

Exemplificarea acestor posibilități este oferită de situația producției ectopice de ACTH în cancerul pulmonar cu celule mici.

Determinările radio-imunologice (RIA) au demonstrat prezența unui exces al acestui hormon în aproape 90% din cazurile de cancer pulmonar cu celule mici (Gilby, 1976) și în 100% din eșantioanele de țesut tumoral provenit din piesele de exereză (Bloomfield și colab., 1977). Cu toate acestea, doar un sfert din aceste cazuri au sindrom Cushing sau cortizolemie semnificativ crescută, iar dacă considerăm în ansamblu cancerul pulmonar, semnele clinice ale excesului de ACTH ectopic se manifestă doar la 0,4—2% din bolnavi (Rassam și Anderson, 1975).

Prohormonul produs de tumoare este așa-numitul „ACTH-mare” („big ACTH”), a cărui moleculă este formată din fragmente peptidice. Molecula de prohormon are aceleași caractere

imuno-reactive ca ACTH, dar devine activă doar după clivare, cînd fragmentele rezultate pot să aibă diverse acțiuni biologice (Minna și Bunn Jr., 1982):

- stimularea steroidogenezei suprarenaliene (like-ACTH);
- stimularea melanocitară cu hiperpigmentare (like-MSH);
- efecte asemănătoare opiaceelor, prin apariția unor substanțe asemănătoare peptidelor neuro-secrete (melencefalina, betaendorfina).

Au fost puși în evidență aproximativ 15 hormoni produși ectopic în peste 20 de tipuri diferite de cancere (Gilby și colab., 1976).

Manifestarea acestor secreții hormonale ectopice poate fi:

— exclusiv biochimică (umorală), putînd să reprezinte un „marker” pentru anumite tumori, dozarea acestora indicînd uneori prezența țesutului tumoral, sau

— luînd aspectul unui sindrom endocrinologic paraneoplazic, atunci cînd excesul hormonal ectopic (din sursă tumorală) determină un tablou clinic mai mult sau mai puțin caracteristic.

Diagnosticul pozitiv al unei secreții hormonale paraneoplazice este bazat pe coexistența unui cancer (cu origine și structură neendocrină) cu un nivel sangvin crescut al unui hormon (de obicei polipeptidic).

Originea paraneoplazică a unei hipersecreții hormonale (de obicei determinată prin dozare radio-imunologică) este susținută de următoarele argumente:

— autonomia față de sistemele de reglare endocrină a acestei secreții hormonale în exces;

— menținerea unui nivel hormonal sangvin crescut, chiar după extirparea glandei endocrine care produce în mod normal acest hormon;

— reducerea marcată a secreției hormonului în exces după îndepărtarea tumorii;

— evidențierea capacității de sinteză și secreție hormonală prin culturi de tumoare *in vitro*;

— constatarea unor diferențe mari între nivelul sangvin arterial și venos al hormonului, înainte și după traversarea tumorii.

În *diagnosticul diferențial* al unui sindrom endocrinologic paraneoplazic trebuie eliminate pe rînd:

— hiperfuncția glandei endocrine în care își are originea acel hormon sau existența unei tumori benigne (de exemplu, adenoamele paratiroidiene);

— exces hormonal prin apariția unei tumori maligne în glanda endocrină;

— modificarea secreției unei glande endocrine prin metastazarea acesteia sau invazia unui cancer din vecinătate;

— modificarea nivelurilor hormonale în cadrul unui sindrom infecțios sau ca urmare a unui tratament.

Pe lîngă faptul că tumoarea produce în multe cazuri prohormoni inactivi biologic, absența manifestărilor clinice ale unui exces hormonal, obiectivat prin dozare radio-imunologică, este explicată și de următoarele fenomene:

— hormonii secretați de tumoare pot determina, prin mecanism feedback negativ, inhibarea producției fiziologice de hormoni;

— absența unor efecte clinice caracteristice sau instalarea lor după o lungă perioadă de acțiune a excesului hormonal (de exemplu excesul de

hormon de creștere trebuie să acționeze câțiva ani pentru a determina acromegalie);

— secreția mai multor hormoni (de exemplu secreția de ACTH maschează efectele unei secreții simultane de vasopresină);

— o urmărire clinică necorespunzătoare a cazului sau insuficiența laboratorului de a evidenția hormonul secretat de tumoare.

Pentru Lees (1975) și Richardson și colab. (1978), cele mai frecvente sindroame endocrine paraneoplazice sînt întîlnite în cancerul pulmonar cu celule mici, frecvența înregistrării lor clinice fiind redată în tabelul 25.I.

TABELUL 25.I

SINDROAME ENDOCRINE PARANEOPLAZICE

Sindrom	Tip de tumoare	Frecvență
Sindrom Cushing prin exces de like-ACTH	Toate tipurile de cancer pulmonar Cancerul pulmonar cu celule mici	0—2,0% 2—22%
Sindrom de „secreție inadecvată” de hormon antidiuretic	Toate tipurile de cancer pulmonar Cancer pulmonar cu celule mici	0,9—2,0% 8—53%
Hipercalcemie prin producție de parathormon	Toate tipurile de cancer pulmonar Cancer pulmonar epidermoid Alte tumori	1,0—7,5% 15% 14%
Ginecomastia	Toate tipurile de cancer pulmonar Cancerul pulmonar cu celule mici	0,5—0,9% 2,0%
Hipertiroidism	Cancerul pulmonar	0—1,4%

25.1.1.

Sindromul hormonului adrenocorticotrop (ACTH) ectopic

Secreția ectopică de ACTH a fost primul sindrom paraneoplazic endocrin studiat în profunzime și care continuă să suscite un deosebit interes.

Etiopatogenie. Numeroase tumori pot să producă ACTH sau precursori de ACTH, substanțe fără activitate biologică, după cum am mai arătat. Tumorile în care este des întîlnită secreția de ACTH sau prohormon (pro-opiocortină*) sînt, în ordinea frecvenței, următoarele (Odell, 1977): cancerul pulmonar cu celule mici, timomul, cancerul pancreatic (în special cel al celulelor insulare), carcinoidul bronșic. S-a mai comunicat posibilitatea secreției ectopice de pro-opiocortină sau ACTH în cancerul ovarian, cancerul tiroidian, feocromocitom, cancerul de prostată, adenocarcinomul renal.

În sindromul paraneoplazic există o autonomie completă a secreției de ACTH ectopic, care nu poate fi influențată de nivelul cortizolemiei plasmatice, nici de testele de inhibiție prin administrare de dexametazon (8 mg).

* Această manifestare paraneoplazică mai poartă și numele de „sindromul excesului de pro-opiocortină ectopică”.

Subliniem, ca deosebit de importante, două aspecte:

— valorile crescute ale ACTH dozat radio-imunologic nu sînt obligatoriu legate și de creșterea cortizolemiei și deci de constatarea unui exces de ACTH funcțional, deoarece ele pot fi datorate doar prezenței unui exces de prohormon, imuno-reactiv, dar inactiv biologic, după cum am mai explicat;

— în cadrul excesului de ACTH ectopic (sau, mai corect spus, de pro-opiocortină ectopică), sindromul Cushing este frecvent recunoscut clinic, dar există și alte manifestări clinice datorate altor fragmente biologice active ale prohormonului (opioizi endogeni): sindroame neurologice, tulburări de comportament psihic, catatonie, sindrom de anorexie-cașexie, tulburări de analgezie.

Histopatologie. Producția ectopică de ACTH este proprie doar unor cancere cu localizări specifice, localizări care determină un tablou histologic de proliferare cu „celule mici”, proliferare de tip carcinoid sau din clasa feocromocitoamelor-neuroblastoamelor (Azzopardi și Williams, 1968). Skrabanek și Powell (1978) consideră că toate cancerele care determină un sindrom paraneoplazic de tip Cushing, indiferent de localizare (plămîn, timus, tiroidă, esofag, stomac, pancreas, intestin subțire, apendice, glande salivare, ovar, testicul, col uterin, prostată) au un *tablou histologic asemănător fie unui cancer pulmonar cu celule mici, fie unui carcinoid*, și că aceste tumori apar în arii în care sînt prezente în mod normal celulele Kultschitzky, avînd din punctul de vedere al conceptului APUD, origine comună.

Semnificația practică a acestor considerații constă în faptul că în prezent se recomandă (Minna și Bunn, 1982) tratarea cancerelor extrapulmonare cu sindrom paraneoplazic de ACTH ectopic și histologie de tipul proliferării cu „celule mici”, cu aceleași scheme terapeutice ca pentru cancerele pulmonare cu celule mici.

Diagnostic. În general, sindromul Cushing este datorat în 40% din cazuri unei tumori hipofizare evidente, în 28% unei cauze centrale (hipotalamo-hipofizare) fără tumoare hipofizară evidentă; aceste cazuri sînt de obicei întîlnite la femei, în perioada vieții reproductive. Din celelalte cazuri de sindrom Cushing 17% sînt datorate unei hiperplazii suprarenaliene (și se manifestă în general la vîrsta copilăriei), iar 15% sînt sindroame Cushing ectopice cu caracter paraneoplazic, manifestate în special la bărbații adulți. Dacă simptomatologia sindromului Cushing de cauză hipofizară benignă sau suprarenaliană (prin tumoare sau hiperplazie) se instalează lent, în luni sau ani, în boala canceroasă producția ectopică de ACTH determină un tablou fulminant.

Tabloul caracteristic pentru sindromul apărut la un bolnav cu cancer pulmonar este instalarea unei astenii generale foarte accentuate și cașexie, pe fondul unei alcaloze hipokaliemice cu edeme secundare, hipertensiune și intoleranță la glucide. Lipsesc stigmatul tipice ale bolii Cushing: obezitatea tronculară și faciesul de „lună plină”. Atît nivelurile ACTH dozat radio-imunologic (RIA—ACTH), cît și ale cortizolului plasmatic sînt crescute. Nivelurile RIA—ACTH nu sînt inhibitate prin administrarea a 8 mg dexametazonă.

Bolnavii cu producție de ACTH ectopic datorată unei tumori timice sau unui carcinoid bronșic sînt în general mai tineri, cu un tablou mai

complet de sindrom Cushing, datorită evoluției mai lente (și deci mai lungi) a cancerului. În general, sindromul Cushing este cu atât mai complet, cu cât ritmul de creștere al tumorii este mai lent și deci timpul de acțiune al hipercortizolemiei pe țesuturile receptoare este mai prelungit.

Diagnostic diferențial. În boala canceroasă, alcaloza hipokaliemică poate fi consecința evoluției bolii propriu-zise, atunci când apar vărsături frecvente, fistule intestinale sau după aspirație nazo-gastrică prelungită ori tratament, cu diuretice. De asemenea la bolnavi cu insuficiență respiratorie cronică, tratați în consecință, poate să apară alcaloză, în special după administrarea de diuretice, care duc la pierdere de potasiu. Alte cauze de hipopotasemie (nelegate de un sindrom paraneoplazic) sînt hiperalimentația intravenoasă, diareea, stările acidozice prelungite, alcaloza acută.

Tratamentul este cauzal, atunci când se poate anihila masa tumorală, sursa de hormon ectopic. Tratamentul chirurgical al tumorilor carcinoide sau tratamentul radio-chirurgical al timoamelor poate amenda total tabloul unui sindrom Cushing paraneoplazic. În urma tratamentului radio-chimioterapic au fost comunicate influențări favorabile de durată ale sindroamelor Cushing apărute în cancerul pulmonar cu celule mici (Gropp și colab., 1980).

Tratamentul patogenetic este aplicat când tratamentul cauzal eșuează și constă în:

- combaterea hipopotasemiei, greu de realizat, deoarece este necesară administrarea zilnică de 80—120 mEq;

- inhibarea secreției suprarenaliene de cortizol, prin administrarea de aminoglutetimidă, metirapon sau e'p'—DDD. După un astfel de tratament este necesar un tratament de substituție a funcției suprarenale. Pentru limitarea efectelor toxice ale dozelor mari de inhibitori de cortico-steroidogeneză au fost încercate combinații de aminoglutetimidă și metirapon împreună cu dexametazon și fluorocortizon (Rassam și Anderson, 1975), precum și indicarea acestor tratamente doar la cazurile cu sindrom grav paraneoplazic.

25.1.2.

Sindromul secreției neadekvate de hormon antidiuretic (HAD)

Apariția hiposodemiei în cursul evoluției unui cancer pulmonar a fost semnalată în 1938, iar în 1957 Schwartz și colab. au descris sindromul „secreției inadecvate de hormon antidiuretic“, pe scurt SIHAD, considerînd că este datorat unui efect stimulator asupra hipofizei posterioare, ca urmare a prezenței unei tumori toracice. Receptorii volefici localizați intratoracic determină eliberarea HAD. În 1963, Amatruda și colab. au demonstrat capacitatea acestor tumori de a produce hormon antidiuretic (respectiv vasopresină) imunoreactiv și bioactiv. Alături de HAD, aceste tumori secretă uneori și oxitocină și neurofizine, identificabile prin determinări radio-imunologice. Neurofizinele sînt proteine „de legare“ a vasopresinei și respectiv oxitocinei, dar în clinică nu s-au descris sindroame legate de producerea ectopică de oxitocină sau neurofizine.



Fiziopatologie. Sindromul umoral al secreției excesive ectopice de HAD este caracterizat prin hiposodemie, hiperglicemie, osmolaritatea urinei paradoxal crescută față de cea a plasmei și concentrații urinare crescute ale sodiului comparativ cu hiposodemia serică. Aceste modificări sînt consecința acțiunii excesive a HAD asupra tubului distal al nefronului, rezultînd o retenție a apei și o pierdere de sodiu. Deoarece nivelul crescut al HAD nu poate fi modificat de mecanismele normale homeostatice, administrarea de soluții conținînd sodiu determină o expansiune a spațiului intravascular cu natriureză promptă. Sodiul administrat este pierdut pe cale renală și sindromul rămîne necorectat.

Frecvența și etiologia. Marea majoritate a cazurilor cu SIHAD este dată de cancerul pulmonar cu celule mici. Pentru Lees (1975), 8—10% din cancerul pulmonar cu celule mici, dau manifestări clinice de SIHAD și hiposodemie. Proporția cazurilor cu valori crescute de HAD (respectiv arginină-vasopresină) determinate radio-imunologic, dar fără manifestări clinice este însă mult mai mare: 41% în cancerul pulmonar (indiferent de tipul histopatologic) și 43% în cancerul de colon (Odell și colab., 1978).

Sindromul SIHAD a fost constatat ca o manifestare paraneoplazică și în cancerul cu alte localizări: prostată, suprarenală, esofag, pancreas, duoden, colon (deja menționat), carcinoid bronșic, timus, cap și gît, limfoame Hodgkin și ne Hodgkiniene (Odell și Wolfsen, 1978; Blackman și colab., 1978; Lees, 1975).

Secreția ectopică de neurofizine, atît pentru vasopresină, cît și pentru oxitocină, a fost semnalată de North și colab. (1979) în 65% din 72 de cazuri de cancer pulmonar cu celule mici.

Tabloul clinic este determinat de intoxicația cu apă (hiposodemie și hiposmolaritate serică) și se manifestă prin stare confuzională, letargie, comportament psihotic, convulsii, comă și chiar deces. Deoarece în mod frecvent SIHAD este întîlnit în cancerul pulmonar cu celule mici, care dă adesea metastaze cerebrale, toți bolnavii la care apare un sindrom neurologic trebuie controlați din punct de vedere al concentrației sodiului seric, după cum toți bolnavii cu cancer pulmonar, hiposodemie și sindrom neurologic trebuie investigați în direcția existenței unor metastaze cerebrale.

Datele de laborator care susțin originea paraneoplazică a unui sindrom de SIHAD, sînt în ordinea importanței următoarele (Minna și Bunn, 1982):

- a) hipoosmolaritatea serică (de obicei sub 200 mOsm/l);
- b) osmolaritatea urinei mai mare decît cea a plasmei* (de obicei ≥ 500 mOsm/l);
- c) excreție urinară crescută continuă de sodiu (peste 20 mEq/l), fără ca bolnavul să urmeze un tratament cu diuretice;
- d) absența semnelor de hipovolemie;
- e) funcție renală normală;
- f) funcție tiroidiană și suprarenală normală.

(Explorarea se face cînd există elemente clinice care sugerează hipofuncția acestor glande endocrine).

* În mod normal osmolaritatea urinei nu trebuie să depășească pe cea a plasmei, adultul normal fiind capabil să dilueze urina la o osmolaritate de 50 mOsm/l. Dacă se constată o osmolaritate serică de 260—270 mOsm/l, iar osmolaritatea urinară peste 200 mOsm/l, urina este necorespunzător concentrată (Lowitt, 1980).

Trebuie exclusă posibilitatea ca bolnavul să fi luat anterior un diuretic sau să fi survenit o reducere ocultă a volemiei, care să antreneze o hiposodemie prin diluție.

Diagnostic diferențial. Există trei situații neoncologice care duc la hiposodemie:

- secreția inadecvată de HAD hipofizar: infecții pulmonare, leziuni ale sistemului nervos central, porfirie intermitentă acută, administrarea de morfină sau anestezice;

- stările edematoase (în care de fapt cantitatea totală de Na este crescută în organism): ciroza hepatică, insuficiența cardiacă, sindromul nefrotic;

- stările cu „pierdere de sare”: boala Addison, administrarea unor medicamente (diuretice, clorpropamidă, carbamazepină, clofibrat, acetaminofen), defectul hipotalamic de osmoreglare, nefropatia cu pierdere de sare.

Pentru susținerea diagnosticului de SIHAD paraneoplazic este necesară constatarea tabloului menționat în cursul evoluției unui cancer cu celule mici sau de tip carcinoid și absența stărilor neoncologice menționate anterior.

Există și posibilitatea apariției sindromului de SIHAD în cursul tratamentului cu ciclofosfamidă sau vincristină în doze mari (ambele utilizate în cancerul pulmonar cu celule mici), în special când bolnavul este hiperhidratat (pentru combaterea cistitei, care apare ca efect secundar nedorit). Ciclofosfamida acționează *like*-HAD asupra tubului distal, crescând clearance-ul apei libere și inducând hiposodemie, accentuată de încărcarea cu apă a bolnavului, instalându-se astfel un sindrom paraneoplazic „secundar” (Minna și Bunn, 1982). Tot sindrom paraneoplazic „secundar” este considerată și apariția SIHAD ca urmare a dezvoltării unei pneumonii în cursul evoluției unui cancer, pneumonia, ca și alte leziuni respiratorii, determinând o stimulare a secreției hipofizare de HAD.

Tratamentul cauzal al sindromului SIHAD constă în tratamentul eficient al cancerului.

Alături de tratamentul antitumoral, vor fi luate în considerare următoarele obiective:

- restricția de apă și a dozelor excesive de citostatice;
- tratamentul hiposodemiei simptomatice severe;
- diferențierea unui sindrom de SIHAD apărut în cursul tratamentului (prin instalarea unei situații morbide neoncologice) de recidiva sindromului paraneoplazic prin reluarea evoluției bolii;
- tratamentul acestui sindrom paraneoplazic recidivat de SIHAD.

Principalul element terapeutic constă în restrângerea aportului lichidian sub 1 litru pe zi. Pentru inhibarea acțiunii HAD asupra tubului renal este utilizată demeclociclina, 800—1 000 mg/zi peroral sau, cu eficiență mai redusă, carbonatul de litiu.

La bolnavii comatoși sau cu sodemia mai mică de 110 mEq/l este necesar un tratament intensiv, conform schemei lui Hautman și colab. (1973): administrarea intravenoasă a 1 000 ml de soluție de NaCl hipertona (30%) la 6—8 ore interval și furosemid (în doză inițială de 40—80 mg pentru evitarea hiperhidratării), monitorizându-se funcția cardiacă și nivelurile potasemiei. După corectarea tabloului clinic grav de hiposodemie se recurge la tratamentul de întreținere bazat pe restricția de lichide și demeclociclina.

Hipercalcemia

Hipercalcemia este prezentă la o zecime din bolnavii cu cancer, iar din cazurile cu hipercalcemie 10—15% nu au metastaze osoase (Myers, 1977).

Mecanismele care induc hipercalcemia în cursul evoluției unui cancer sînt producția ectopică de parathormon sau like-parathormon, prostaglandine (Tashjian, 1975), factor activator al osteoclastelor (Mundy și colab., 1974), adenoame paratiroidiene concomitente sau rezorbția osului de către tumoare (tabelul 25.II).

TABELUL 25.II

CAUZE ONCOLOGICE DE HIPERCALCEMIE (LOWITZ, 1980)

Mecanismul	Tipul de cancer
Metastaze osoase și substanțe neidentificate hipercalcemiante	Numeroase cancere
Prostaglandine (PGE ₁ , PGE ₂)	Cancerul pulmonar
Parathormon ectopic	Cancerul pulmonar cu celule mici Adenocarcinomul renal Cancerul cavității bucale Cancerul vezicii urinare Cancerul penian Cancerul glandei parotide Limfomul histiocitar Cancerul esofagian
Factorul de acționare al osteoclastelor și alte substanțe incomplet caracterizate	Mielomul multiplu Leucemia granulocitară
Tratament endocrin aditiv	Cancerul mamar

Metastazele osoase pot fi cauza hipercalcemiei, dar adevărata hipercalcemie paraneoplazică apare în lipsa metastazelor osoase și această situație este destul de frecventă în unele cancere. De exemplu, în cancerele pulmonare epidermoide cu hipercalcemie, doar unul din șase cazuri are metastaze osoase, în contrast cu mielomul multiplu, unde hipercalcemia apare doar cînd există interesarea neoplazică a osului (Odell și colab., 1977).

Există și situații în care, cu toată prezența metastazelor osoase, hipercalcemia este rar semnalată. Astfel, 20—50% din cazurile de cancer pulmonar cu celule mici au metastaze în măduva oaselor, cu invazia structurii osului, dar hipercalcemia apare într-o proporție mult mai mică de cazuri (Lowitz, 1980).

Fiziopatologie. În condiții normale, calcemia este menținută în echilibru prin mecanisme care controlează rezorbția osoasă și osteoliza, care sînt stimulate de PGE, parathormon (PTH), factorul de activare al osteoclastelor, tiroxina (T₄) și un factor osteolitic provenit din monocite.

Pe de altă parte, absorbția calciului din tubul gastrointestinal și tubii renali este stimulată de PTH, hormonul de creștere și vitamina D.

Dacă tumoarea generează unul sau mai mulți din acești factori se poate instala o hipercalcemie paraneoplazică, ca o consecință a modificării „turno-

ver-ului" osos, adică atât a formării, cât și a degradării structurii osoase. Doar în mielomul multiplu fenomenul de refacere osoasă este minim, dominantă fiind degradarea osoasă (așa cum o dovedesc și valorile normale ale fosfatazei alcaline serice).

Diagnostic. Tabloul clinic este dependent de rapiditatea de instalare a hipercalcemiei și de nivelul acesteia.

Instalarea rapidă a hipercalcemiei se manifestă prin semne neurologice, de la modificarea comportamentului până la stare de comă, chiar dacă nivelurile calcemiei sînt numai de 12—13 mg/100 ml.

Instalarea lentă a hipercalcemiei determină inițial simptome dispeptice (anorexie, grețuri, vărsături, constipație), tabloul completîndu-se cu poliurie și polidipsie, pierderea memoriei și scurtarea intervalului QT pe electrocardiogramă. Dacă instalarea hipercalcemiei este foarte lentă, simptomele sînt minime, chiar la valori ale calciului seric de 15 mg/100 ml (Lowitz, 1980).

Deoarece bolnavii sînt de multe ori deshidratați (poliurie), există și alte tulburări electrolitice și în special hipopotasemie.

Recunoașterea simptomelor menționate la un bolnav neoplazic sugerează diagnosticul de hipercalcemie și impune evaluarea ionogramei serice și a fosfatazei alcaline serice.

Diagnosticul diferențial. Pentru a considera hipercalcemia ca o manifestare paraneoplazică, trebuie excluse cauzele benigne de hipercalcemie la bolnavii canceroși.

Din acestea, cele mai frecvent întîlnite sînt hiperparatiroidismul și boala Paget a osului. Hiperparatiroidismul prin adenoame paratiroidiene trebuie suspectat și exclus în special în cazurile de hipercalcemie apărută la bolnavi cu limfoame, cancer mamar și mieloame multiple, la care se constată niveluri crescute de parathormon, deoarece aceste cancere nu produc parathormon.

Considerăm util să semnalăm (Lowitz, 1980) cauzele benigne ale unor scintigrafii osoase, care sugerează și posibilitatea unei metastaze osoase: status postfractură, osteomielita, boala Paget a osului, hiperostoza frontală internă, osteoartrita, artrita reumatoidă, spondilita ankilopoietică, necroza aseptică a osului, osteoporoza regională.

Tratament. În formele ușoare este suficientă creșterea ingestiei de lichide cu 2—4 l peste normal și eventual administrarea perorală de fosfat de sodiu (cu combaterea diareei secundare).

În formele moderate și severe se forțează diureza prin administrare intravenoasă de ser fiziologic până la 6 l/24 de ore și furosemid 40—80 mg intravenos la 6—8 ore interval, cu înlocuirea potasiului și magneziului și supravegherea funcției cardiace.

Dacă diureza salină este contraindicată (boli cardiovasculare, cu risc de edem pulmonar acut) se utilizează mitramicină în doză de 25 μg/kilocorp, la 4—5 zile interval.

25.1.4.

Hipocalcemia

În cadrul manifestărilor paraneoplazice umorale ale metastazelor osoase din cancerele de sîn, prostată sau plămîn, hipocalcemia este frecvent întîlnită. Pentru Raskin și colab. (1973), frecvența hipocalcemiei este aproape dublă

în metastazele osteoblastice (16%), comparativ cu incidența hipercalcemiei (9%).

Manifestarea clinică a hipocalcemiei este însă foarte rară, deoarece rareori se ajunge la valori care să declanșeze tetanie și să necesite tratament cu calciu (Gordon, 1974).

Hipocalcemia este inclusă în grupa fenomenelor paraneoplazice endocrine, deoarece nu se poate exclude posibilitatea intervenției unei producții ectopice de calcitonină, cu toate că pînă la găsirea unor dovezi directe în acest sens, hipocalcemia poate fi considerată doar ca un mecanism patogenetic legat de apariția metastazelor osoase, care duce la instalarea unei perturbări în funcția neuromusculară, deseori nedecelată clinic.

25.1.5.

Sindroame prin producere ectopică de gonadotrofine

Principalele sindroame clinice determinate de producerea ectopică de gonadotrofine sînt pubertatea precoce (la copii) și ginecomastia (la bărbați).

Tumorile incriminate în producerea de gonadotrofine sînt tumorile testiculare și ovariene cu originea în celulele germinale, tumorile hipofizare, tumorile trofoblastice și mult mai rar hepatoblastoamele și cancerule pulmonare (adenocarcinoamele și cancerule cu celule mari).

În mod practic, suspiciunea producerii ectopice a unui exces de gonadotrofine este investigată prin dozarea subunității beta a moleculei de gonadotrofină corionică umană (HCG).

Gonadotrofinele umane — hormonul foliculo-stimulant (FSH), hormonul luteinizant (LH) și HCG — sînt compuse din două lanțuri polipeptidice, subunitățile alfa și beta. Subunitatea alfa este identică la toți hormonii. Subunitatea beta este caracteristică imunologic și biologic fiecărui hormon, dar nu își manifestă activitatea biologică decît în prezența subunității alfa. Dozarea subunității beta oferă deci o informație privind cantitatea de gonadotrofină produsă de tumoare.

În timp ce producerea ectopică de HCG a fost semnalată în multe tumori, literatura nu este concludentă în ceea ce privește constatarea producerii ectopice de FSH sau LH.

Pentru apariția sindromului clinic (pubertate precoce, de exemplu) sînt necesare două condiții: secreția ectopică a unui hormon biologic activ (cunținînd atît subunitatea beta, cît și subunitatea alfa) și acțiunea pe un organism care să fie influențat de aceste cantități de hormoni (un copil, de exemplu).

Situația tipică pentru aducerea în discuție a diagnosticului diferențial de paraneoplazie prin secreție ectopică de gonadotrofine este constatarea instalării unei ginecomastii la bărbat.

Natura paraneoplazică a acestei ginecomastii este atestată de valori crescute de HCG, determinate radio-imunologic (testele de sarcină nu sînt suficient de sensibile pentru a decela producțiile paraneoplazice de HCG). Originea acestei producții este fie o tumoare cu punct de plecare în celulele germinale (testiculară sau cu diverse alte localizări — mediastinală, retroperitoneală etc.), fie un cancer pulmonar.

A doua manifestare paraneoplazică legată de secreția de gonadotrofine este pseudopubertatea precoce, apărută la copiii cu hepatoame sau la fete cu tumori ovariene de tip embrionar.

25.1.6.

Producția ectopică a altor like-hormoni hipofizari

Hormonul de creștere (STH) a fost identificat ca un produs posibil de secreție în cancerul pulmonar și cancerul gastric, dar supraviețuirea scurtă a acestor cazuri nu permite instalarea acromegaliei.

Determinările de *prolactină* în cancer au evidențiat doar în trei cazuri valori crescute (cancer pulmonar nediferențiat, cancer pulmonar cu celule mici, hipernefrom) și o singură dată a fost comunicat un sindrom de galactoree prin hiperprolactinemie de natură paraneoplazică (Minna și Bunn, 1982).

Constatarea clinică sau numai biochimică a unei *hiperfuncții tiroidiene* este destul de frecventă în cancer: 8% din bolnavele cu boală trofoblastică gestațională și 1,4% din cazurile de cancer pulmonar. Din punct de vedere teoretic, această stimulare tiroidiană poate fi datorată producției ectopice a uneia din următoarele substanțe: like-TSH hipofizar, tiotropină corionică sau LATS (long acting thyroid stimulator). În cele mai multe cazuri, cauza acestei hiperfuncții tiroidiene a fost însăși secreția excesivă de HCG*, așa cum s-a constatat în tumorile testiculare și în coriocarcinoame (Cave și Dunn, 1976).

25.1.7.

Hipoglicemia paraneoplazică

În patogenia sindromului hipoglicemic paraneoplazic pot fi implicate mai multe mecanisme (Minna și Bunn, 1982):

- producția ectopică de insulină;
- producția de somatomedine;
- consumul excesiv al glucozei de către tumoare;
- producerea unei substanțe cu efect de stimulare a secreției de insulină în pancreas (secreția eutopică de insulină);
- consumul excesiv al glucozei de către tumoare;
- metastazarea masivă a ficatului sau producerea unui inhibitor al glucozei în ficat.

În ordinea frecvenței, tumorile asociate cu hipoglicemie sînt următoarele: tumorile mezenchimale (mezotelioame, fibrosarcoame, neuro-fibrosarcoame, hemangio-pericitoame), hepatoamele, carcinoamele suprarenaliene, tumorile gastrointestinale și altele (carcinoame anaplastice, pseudomixoame, hipernefroame, limfoame, feocromocitoame).

Hipoglicemia poate să apară în leucemia acută, ca urmare a unei metabolizări excesive a glucozei plasmatică, prin numărul mare de celule leucemice circulante.

Menționăm de asemenea hipoglicemia din insulinoame, care intră în tabloul clinic al acestor tumori și nu reprezintă deci o manifestare paraneoplazică.

A mai fost descris un mezoteliom toracic, asociat cu hipoglicemie, la care s-a constatat un nivel foarte scăzut de glucagon (Silyvert și colab., 1977), posibil prin secreția unei substanțe inhibitoare a eliberării glucagonului.

În cadrul mecanismelor paraneoplazice de producere a hipoglicemiei, cel mai discutat este secreția de somatomedine sau, în nomenclatura prescurtată

* În aceste condiții secreția masivă de HCG a avut activitate like-TSH, determinînd o stare hipermetabolică secundară.

americană NSILA (substanțe cu activitate like-insulinică) (Odell și Wolfren, 1978; Blackman și colab., 1978). Prin definiție, somatomedinele sînt substanțe cu aceleași proprietăți biologice și tropism pentru receptorii de insulină, dar cu alte proprietăți radio-imune decît ale insulinei (Minna și Bunn, 1982).

În serul normal, jumătate din activitatea hipoglicemiantă se datorește acțiunii somatomedinelor (citată de Minna și Bunn, 1982), care sînt produse de ficat sub acțiunea hormonului de creștere.

Pentru stabilirea cu certitudine a diagnosticului de hipoglicemie paraneoplazică prin activitate like-insulinică (NSILA-somatomedine) trebuie exclusă posibilitatea unei hipoglicemii prin administrare de insulină sau sulfoniluree, a unui insulinom, insuficiențe suprarenaliene sau hipofizare, abuz de alcool sau subnutriție. Este vorba de obicei de tumori mezenchimale voluminoase (2—3 kg) cu metastaze hepatice, al căror extract are activitate biologică like-insulinică care nu este deprimată cu anticorpi antiinsulinici, dar are tropism pentru receptorii insulini (Meggyesi și colab., 1974).

25.2.

Manifestări hematologice ale malignității

Cauza cea mai frecventă a manifestărilor paraneoplazice hematologice este afectarea directă a măduvei oaselor de către procesul patologic malign sau de către metastaze.

Tratamentul antitumoral (radioterapie, chimioterapie) poate declanșa de asemenea manifestări hematologice.

25.2.1.

Eritrocitoza

Este cel mai frecvent asociată cu hipernefroame (15%), tumori benigne (14%), tumori renale (Wilms, hemangioame și sarcoame) (3%), hepatoame (19%), hemangioblastoame (15%), tumorile glandei suprarenale (feocromocitom și tumori secretante de aldosteron) (3%), diverse tumori (ovar, plămîn, timus) (3%).

Regresează prin ablația tumorii. La 53% din bolnavi a fost găsit crescut nivelul eritropoietinei.

Din mecanismele presupuse că sînt cauza nivelului crescut de eritropoietină menționăm:

- producția de către tumoare a eritropoietinei,
- secreția de către tumoare a unui factor care stimulează eliberarea ectopică de eritropoietină,
- inducerea de hipoxie sistemică sau local renală prin efectul masei tumorale, obstrucție vasculară sau hipoxie,
- modificarea metabolismului eritropoietinei de către tumoare.

25.2.2.

Anemia

Anemia este cel mai frecvent întâlnită la bolnavii canceroși, mai ales la cei în fazele terminale. Cele mai frecvente cauze ale anemiei sînt: invazia de către tumoare sau metastaze a măduvei oaselor, supresia medulară prin chi-

mio- și radioterapie, hipersplenism, hemoliză imunologică, anemie megaloblastică, deficiență de vitamine și fier, anemie hemolitică microangiopatică și aplazia pură a celulelor roșii.

25.2.3.

Granulocitoza

Granulocitoza este o manifestare hematologică care însoțește tumorile primare gastrice, pulmonare, pancreatice, cerebrale, melanoamele, boala Hodgkin și limfomul difuz histiocitic.

Singura terapie care poate influența granulocitoza este tratamentul tumorii primare.

25.2.4.

Granulocitopenia

Granulocitopenia poate fi declanșată de tratamentul antitumoral progresiv ca chimio-radioterapia sau de procesul tumoral în evoluție (înlocuirea măduvei de către tumoare sau metastaze, carcinoame, limfoame, mieloame sau leucemie) ori infecții severe în cadrul complicațiilor.

Ca mecanism, este presupusă supresia de către tumoare a acțiunii unui factor de stimulare a celulelor stem medulare.

25.2.5.

Eozinofilia și bazofilia

Eozinofilia este deseori evidențiată la subiecții cu boală Hodgkin (20%), dar este prezentă și la cei cu limfoame maligne, melanoame, tumori cerebrale și alte tumori.

A fost pusă în evidență o substanță peptidică acționând ca o eozinofilo-poietină, produsă sau stimulată de celulele tumorale. Metoda terapeutică în acest caz este tratamentul tumorii primare.

25.2.6.

Trombocitoza

Trombocitoza este o manifestare hematologică survenită cu cea mai mare frecvență la bolnavii canceroși (30—40%). Din tumorile cel mai des însoțite și de trombocitoză menționăm carcinoamele, leucemiile și limfoamele Hodgkin și ne Hodgkiniene. Nu există un tratament specific, singura metodă fiind tratamentul tumorii primare.

25.2.7.

Trombocitopenia

Adesea legată de tratamentul antitumoral (chimioterapie, radioterapie), este prezentă și în cazurile de leucemie acută și la cei cu sindrom de coagulare intravasculară diseminată (CID). În ultimul timp s-a definit un sindrom asemănător cu „purpură idiopatică trombocitopenică” (ITP-like), care constă

din trombocitopenie, fără anemie, fără semne de CID sau trombocitopenie indusă de tratamentul chimioterapic sau radiologic. Cele mai frecvente tumori asociate cu acest sindrom sînt: boala Hodgkin, leucemia limfocitară cronică, limfoamele ne Hodgkiniene, leucemie limfoblastică acută, sarcoamele imunoblastice, ca de altfel și carcinoamele pulmonare, mamare, rectale, ale căilor biliare și testiculare.

Clinic se manifestă prin hemoragii, peteșii și purpură.

Majoritatea bolnavilor au trombocitele sub 30 000/mm³.

Terapia cea mai adecvată va consta din transfuzii cu masă trombocitară, corticoterapie și splenectomie.

25.2.8.

Coagularea intravasculară diseminată (CID)

Complicațiile hemoragice și trombotice sînt frecvent întîlnite la bolnavii canceroși avînd cauze diferite ca: trombocitopenia, lezarea țesuturilor normale de către tumoare sau ca urmare a terapiei, deficiență vitaminică, anticoagulanți circulanți, boli hepatice sau coagularea intravasculară diseminată. Din toate acestea un loc important prin frecvență îl ocupă coagularea intravasculară diseminată (tabelul 25.IV).

TABELUL 25.IV

FRECVENȚA DIFERITELOR TIPURI DE CANCER ASOCIATE CU COAGULAREA INTRAVASCULARĂ DISEMINATĂ (CID)

(MINNA ȘI BUNN, 1982)

Tipul tumorii	CID cronică	Proporția (%) a tumorilor care dau CID	
		hemoragii	tulburări de coagulare
Pancreas	24	2	0
Plămîn	20	1,5	12
Prostată	13	18	8
Stomac	12	4	0
Leucemie acută	9	64	19
Colon	5	0,7	6
Tumoare primară necunoscută	5	0	0
Ovar	4	0,7	1
Vezicula biliară (colangiocarcinom)	4	0,7	2
Limfoame	1	1,5	16
Sîn	0,5	0	10
Melanoame	0,5	0	3
Diverse	3	3	10

Adesea CID este indusă de endocardita nebacteriană trombotică. Endocardita nebacteriană trombotică determină embolii cerebrale sau în alte organe, care se pot instala treptat sau brusc.

Tratamentul CID constă în tratamentul tuturor factorilor care favorizează CID, tratamentul tumorii primare și tratamentul preventiv bazat pe heparină. Tratamentul preventiv al CID cu heparină constă în 5—10 unități/kg/oră timp de 24 de ore pe zi timp de 5—14 zile. Se poate mări doza pînă la 10—20 unități/kg/oră dacă se instalează sindromul.

În cazul prezenței sindromului de coagulare intravasculară în faza acută sau cronică cu caracter progresiv, se aplică un tratament continuu cu heparină, în doze de 300—600 unități/kg/24 de ore. Se adaugă și tratamentul cu masă trombocitară, crioprecipitate și transfuzii cu sânge integral.

Pe primul loc în tratamentul CID rămâne tratamentul tumorii primare care a dus la declanșarea acestui sindrom.

25.3.

Manifestări renale ale malignității

Din complicațiile renale declanșate la bolnavii cu cancer, existente în tabelul 25.V, doar leziunile glomerulare și obstrucția de către produsele tumorale pot fi considerate ca sindroame paraneoplazice adevărate.

TABELUL 25.V

DIAGNOSTICUL DIFERENȚIAL AL AFECȚIUNILOR RENALE LA BOLNAVII CANCEROȘI (MINNA ȘI BUNN, 1982)

-
- Infiltrarea directă de către tumoare a rinichiului
 - Obstrucția tractului urinar de către tumoare
 - Tulburări electrolitice determinate de tumoare sau tratamentul lor (exemple: calciu, acid uric, potasiu)
 - Tulburările umorilor organismului induse de tumoare și tratamentul ei (cauze prerenale)
 - Infecții
 - Toxicitatea metodelor terapeutice (chimioterapie, radioterapie, imunoterapie, antibiotice)
 - Leziuni glomerulare de etiologie necunoscută (asociate de obicei cu sindrom nefrotic), paraneoplazie
 - Obstrucții prin produsele tumorii
-

Leziunile glomerulare de etiologie neprecizată, singura manifestare paraneoplazică adevărată, se manifestă clinic printr-o proteinurie masivă cu sindrom nefrotic.

Există dovezi clinice și imunologice despre natura paraneoplazică a acestui sindrom. Sindromul nefrotic poate să preceadă dezvoltarea bolii canceroase. Prin tratament chirurgical (resecția tumorii), radiologie și chimioterapie, sindromul dispare și poate să reapară în urma recidivei.

Cele mai frecvente neoplazii asociate cu acest sindrom paraneoplazic sînt limfomul Hodgkin și limfomul nehodgkinian.

25.4.

Leziuni paraneoplazice ale pielii

Leziunile paraneoplazice cutanate care însoțesc un proces malign sînt multiple; au putut fi împărțite în 5 mari categorii după cum urmează:

- a. Leziuni pigmentate — keratoze.
- b. Leziuni eritematoase.
- c. Leziuni buloase și urticariene.
- d. Leziuni diverse.
- e. Leziuni endocrine și metabolice.

În evaluarea leziunilor cutanate care ar putea fi manifestări paraneoplazice, un loc important îl ocupă anamneza, care trebuie îndreptată asupra expunerilor la substanțe farmaceutice, chimice, altor stări patologice, precum și asupra caracterului ereditar al leziunilor.

Diagnosticul diferențial trebuie să ia în discuție afecțiunile benigne, leziunile cutanate provocate de tumoarea primară sau metastazele ei, infecțiile cutanate sau reacțiile la terapia anticanceroasă (chimio-radioterapie).

În tabelele 25.VI, 25.VII, 25.VIII, 25.IX, 25.X sînt arătate principalele leziuni cutanate paraneoplazice.

TABELUL 25.VI

LEZIUNI PARANEOPLAZICE ALE TEGUMENTULUI
LEZIUNI PIGMENTATE – KERATOZE
(MINNA ȘI BUNN, 1982)

Denumirea leziunii	Descrierea leziunii	Malignitate predominantă	Etiologie	Observații
Acanthosis nigricans	Hiperkeratoză și pigmentare, în special ale axilei, gîtului, pliurilor și regiunilor ano-genitale	Tumori gastrice, abdominale și altele	Necunoscută	Foarte importantă, pentru a deosebi leziunile benigne prezente de la naștere și forme benigne asociate cu diferite sindroame
Leser-Trelat	Keratoză seboreică multiplă cu debut acut	Limfoame ne-hodgkiniene, tract gastro-intestinal	Necunoscută	Trebuie deosebită de keratozele seboreice, care nu sînt asociate cu malignitatea
Boala Bowen	Leziune persistentă progresivă roșiatică, fără să iasă în relief, sau o crustă datorată unui neoplasm intra-epidermic	Plămîn Tract gastro-intestinal, genito-urinar, piele	Necunoscută, uneori expunere la arsenic	Uneori, la 5 ani de la apariția leziunii tegumentare se dezvoltă un cancer sistemic.
Melanoză generalizată	O pigmentare difuză a tegumentului. Pa-loare generalizată cenușiu-albastră	Limfoame Hepatoame Tumori metastatice hepatice Melanom	Depozite de melanină în derm	De asemenea se vîd și în cazuri benigne. Debut deseori rapid
Boala Paget	Pete keratozice eritematoase la areola mamelonară și mamelon sau la țesutul mamar accesoriu	Sin	Celulele Paget sînt mai degrabă migrate de la carcinom	Apare la mai puțin de 3% din cancerele mame
Boala Bazex	Hiperkeratoză eritematoasă cu crustă și prurit, îndeosebi în palme și în talpă	Cap Gît Tract gastro-intestinal	Necunoscută	Numai la bărbați

TABELUL 25.VII

SINDROAME PARANEOPLAZICE CU MANIFESTĂRI CUTANATE.
LEZIUNI ERITEMATOASE
(MINNA ȘI BUNN, 1982)

Denumirea leziunii	Descrierea leziunii	Malignitate predominantă	Etiologie	Observații
Eritemul griatum repens	Modificări rapide și circumvoluțiuni progresive însoțite de cruste și prurit	Slă, plămîn și altele	Necunoscută	Aproape totdeauna asociată cu cancerul
Eritemul anular centrifugum	Leziuni anulare lent migratorii	Prostată Mielom și altele	Necunoscută	Apare de asemenea și în infecțiilor și alte boli.
Eritemul necrolitic migrator (glucogonom) Eritemul feței	Eritem eroziv al membrilor și papule eritematoase, stomatită Eritem episodic al feței și gâtului	Pancreas Carcinoide Carcinom medular tiroidian	Glucogonoma sau alte produse metabolice Serotonina și alte peptide vasoactive Necunoscută	10—20% incidență la bolnavi canceroși
Dermatita exfoliativă	Eritem progresiv urmat de descumare	Limfoame cutanate, limfoame nonhodgkiniene, boala Hodgkin		

TABELUL 25.VIII

SINDROAME PARANEOPLAZICE CU MANIFESTĂRI CUTANATE.
LEZIUNI BULOASE ȘI URTICARIENE
(MINNA ȘI BUNN, 1982)

Denumirea leziunii	Descrierea leziunii	Malignitate predominantă	Etiologie	Observații
Pemfigus	Bule mari, întinse, cu absența histologică a acantolizei	Diverse	Necunoscută	Nu a fost verificată asocierea cu malignitatea a acestui tip de leziune
Dermatita herpetiformă	Bule subepidermice însoțite de cruste	Limfoame Diverse	Legată de auto-anticorpi	

TABELUL 25.IX

SINDROAME PARANEOPLAZICE CU MANIFESTĂRI CUTANATE. LEZIUNI DIVERSE.
(MINNA ȘI BUNN, 1982)

Denumirea leziunii	Descrierea leziunii	Malignitate predominantă	Etiologie	Observații
Dermatomiozită	Eritem roz-vișiniu, în special al pleoapelor și mâinilor	Diverse	Necunoscută	Incidența tumorii maligne în 7—50% din cazuri. Precedă carcinoamele cu zile sau chiar ani

Denumirea leziunii	Descrierea leziunii	Malignitate predominantă	Etiologie	Observații
Hipertrichosis lanuginosa	Dezvoltare rapidă a unui păr friabil, fin, lung, mătășos, pe urechi, frunte și chiar tot corpul	Plămîn Colon Vezică Uter Veziculă biliară	Necunoscută	Asociere frecventă cu cancerul
Pahidermoperiostoză	Subțierea pielii și crearea de noi cute, subțierea buzelor, urechilor și pleoapelor, macroglosie, transpirație excesivă	Plămîn Uter	Necunoscută	Apare de asemenea în tumori benigne și abcese pulmonare
Prurit	Nu se evidențiază leziuni cutanate. Necesită investigații multiple pentru a decela boala sistemică însoțitoare	Limfoame Leucemii Mielom multiplu Tumori SNC Tumori abdominale	Necunoscută	Deseori asociate cu tumori benigne
Depunere de amiloid	Macroglosie, purpură roză, noduli superficiali gălbui sau roz în relief	Mielom multiplu Macroglobulinemie Waldenström	Depunere de amiloid în vasele sangvine și derm.	De asemenea, asociată cu amiloidoză și alte condiții benigne
Herpes Zoster	Erupție veziculară pe zona unui dermatom	Boala Hodgkin Limfom nehodgkinian Leucemie limfatică cronică Cancer pulmonar cu celule mici	Imunosupresie	Incidență mare la canceratele cu imunosupresie și după terapie cu imunosupresive
Cap de meduză Tromboflebite Ginecomastie				

**SINDROAME PARANEOPLAZICE CU MANIFESTĂRI CUTANATE.
LEZIUNI ENDOCRINE ȘI METABOLICE
(MINNA ȘI BUNN, 1982)**

TABELUL 25.X

Denumirea leziunii	Descrierea leziunii	Malignitate predominantă	Etiologie	Observații
Paniculită sistemică nodulară (Boala Weber-Christian)	Noduli eritematoși subcutanați sensibili Pot fi asociați și cu durere abdominală, necroză grăsoasă în măduva oaselor, plămîni și alte organe	Adenocarcinoame, pancreas	Efecte ale enzimelor pancreatice eliberate în circulația țesutului grăsos	De obicei asociată cu boli pancreatice, uneori de natură benignă

Tabelul 25 X (continuare)

Denumirea leziunii	Descrierea leziunii	Malignitate predominantă	Etiologie	Observații
Porphyria cutanea tarda	Leziuni cutanate fotosensibile, deseori dureroase și pruriginoase	Ficat	Porfirine crescute în țesutul cutanat	Rar întâlnită
Sindrom Cushing	Striațiuni largi purpurii. Atrofie hiperpigmentară, pletoră, teleangiectazii, hirsutism redus	Plămîn Tiroidă Testicule Ovar Pancreas— celule insulare Glandă pituitară, glandă suprarenală	Secreție de ACTH crescută	
Sindrom Addison	Hiperpigmentare generalizată în special a cicatricilor și zonelor de fricțiune	Invasia glandelor suprarenale, limfoame și carcinoame	Descrerea glucocorticoidilor	Rareori indus de tumori care invadează suprarenala
Hirsutism	Creșterea părului pe tot corpul	Tumori de suprarenală, ovar	Creșterea glucocorticoidilor și creșterea de testosteron	Asociat cu virilism

25.5.

Sindroame paraneoplazice gastrointestinale

Tumorile endocrine producătoare de hormoni pot fi însoțite de sindroame paraneoplazice, ca sindromul Zollinger-Ellison și sindromul carcinoid.

În cadrul sindroamelor paraneoplazice gastrointestinale, enteropatiile însoțite de o pierdere proteică sînt destul de frecvent întâlnite. La examinările paraclinice se constată o scădere a albuminelor serice, care poate fi datorată unei sinteze scăzute de albumine, distribuției anormale a albuminelor în diferite colecții lichidiene, unei pierderi crescute de proteine în tractul gastrointestinal. Deseori prima manifestare a unei neoplazii este apariția unor edeme și hipoproteinemie inexplicabilă.

Acest sindrom este prezent la bolnavii cu cancer pulmonar.

O altă manifestare paraneoplazică gastrointestinală este malabsorbția pentru substanțe specifice sau pentru mai multe substanțe. Cel mai frecvent, limfoamele maligne cu localizare în intestinul subțire sau tumorile gastrice, hepatice, biliare sînt însoțite de malabsorbție.

Trebuie semnalată și hepatopatia ca sindrom paraneoplazic, atunci cînd nu sînt prezente metastazele hepatice. Creșterea fosfatazelor alcaline hepatice într-un schwanom malign sau într-un hipernefrom, este urmată de revenirea la valorile normale după extirparea tumorii.

Anorexia, cașexia și anomaliile de gust fac parte din cele mai frecvente manifestări paraneoplazice, al căror mecanism încă nu a putut fi descifrat.

25.6.

Diverse sindroame paraneoplazice

25.6.1.

Sindromul febril paraneoplazic

Prezența anumitor tumori este uneori însoțită de febră. Tumorile care pot fi însoțite de febră sînt limfoamele Hodgkin, mixoamele, hipernefroamele, sarcoamele osteogenice, precum și alte tumori.

Etiologia febrei provocată de tumori este considerată eliberarea de substanțe pirogene de către celulele tumorale, celulele normale (exemplu celule Kupffer în cazul hepatoamelor) sau leucocite.

Substanțele pirogene acționează asupra centrului termoreglator din hipotalamus.

25.6.2.

Acidoza lactică

Acidoza lactică este adesea asociată cu leucemia acută limfatică, sau mieloidă, limfomul Hodgkin sau limfoame ne Hodgkiniene. Tratamentul cel mai eficace este tratamentul tumorii primare.

25.6.3.

Hiperlipemia

Hiperlipemia a fost semnalată în mielomul multiplu, hepatom și cancerul de colon.

25.6.4.

Hiperamilazemia

Tumorile pulmonare, ca și metastazele pleurale pot fi însoțite de o creștere a amilazelor serice. Amilazele sangvine sînt de 2 feluri, amilaze pancreatice și salivare. În general, în cazul tumorilor pulmonare și al metastazelor lor pleurale, s-au găsit crescute amilazele salivare. Am descris prezența unei amilazemii de 1 300 μ l la un bolnav cu un hepatom și cu un pancreas normal la examenul necroptic (Chiricuță, 1983).

25.6.5.

Amiloidoza

Deși amiloidoza are multiple cauze care nu includ prezența unei tumori maligne, în 15% din cazuri a fost semnalată prezența unor tumori ca: mielom multiplu, limfoame și carcinoame (hipernefroame, vezicale, col uterin, căi biliare).

25.6.6.

Manifestări alergice

Vecerina și Saegesser (1980) au stabilit recent faptul că în polipoza recto-colică, uneori în sindromul Gardner (polipoză rectală și colică asociată cu cancer rectal, chisturi sebacee multiple și osteoame), ca și în sindromul

Turcot (polipoză recto-colică asociată cu diferite manifestări neurologice) pot apărea cazuri de manifestări alergice evidente. Chiricuță și colab., 1982, au descris recent un sindrom paraneoplazic caracterizat prin polipi recto-colici cancerizați și astm bronșic rebel. După îndepărtarea recto-colonului cu 3 polipi și un cancer recto-sigmoidian, crizele grave de astm bronșic apărute în urmă cu 2 ani și care răspundeau la tratamentul cortizonic, fiind însoțite și de crize diareice sangvinolente, au dispărut în întregime.

Bibliografie

- ABELOFF M. D., TRUMP D. L., BAYLIN S. B. — *Cancer*, 1981, 48, 1 082—1 087.
 AMATRUDA T. T., UPTON G. V. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1974, 230, 168—180.
 AZZOPARDI J. G., WILLIAMS E. D. — *Cancer*, 1968, 22, 274—286.
 BLACKMAN M. R., ROSEN S. W., WEINTRAUB B. D. — *Advanc. Intern. Med.*, 1978, 23, 85—113.
 BLOOMFIELD G. A., HOLDAWAY J. M., CORRIN B. și colab. — *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*, 1977, 6, 95—104.
 CAVE W. T. jr., DUNN J. T. — *Ann. Intern. Med.*, 1976, 85, 60—63.
 CHIRICUȚĂ I. C. — Hiperamilazemie în cazul unui hepatom. Comunicare personală, 1983.
 CHIRICUȚĂ I., LAZĂR L., MUREȘAN D. — Sindrom paraneoplazic caracterizat prin polipi recto-colici cancerizați și astm bronșic rebel, Comunicare U.S.S.M. Secția chirurgie, Cluj-Napoca, nov. 1982.
 EHRLICH M., GOLDMAN M., HEINEMANN H. O. — *Metabolism*, 1963, 22, 516—526.
 FIDLER I. J. — *Cancer Res.*, 1978, 38, 2 651—2 660.
 GILBY E. D., REES L. H., BONDY P. K. — Ectopic hormones as markers of response to therapy in cancer, in: *Proceedings of the Sixth Intern. Symp. of Biol. Characterization of Human Tumours*, Amsterdam, Am. Elsevier Publ. Comp., 1976, 132—138.
 GOLTZMAN D., HUANG S. N., BROUNE C. și colab. — *J. clin. Endocrinol. Metab.*, 1979, 49, 364—369.
 GORDON G. S. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1974, 230, 181—186.
 GROPP C., HAVEMANN K., SCHEUER A. — *Cancer*, 1980, 46, 347—354.
 HANSEN M., HANSEN H. H., HIRSCH F. R. — *Cancer*, 1980, 345, 1 432—1 437.
 HANTMAN D., ROSSIER B., ZOHLMAN R. și colab. — *Ann. Intern. Med.*, 1973, 78, 870—875.
 HAYWARD M. L. jr., HOWELL D. A., O'DONNELL J. F. și colab. — *Cancer*, 1981, 48, 1 643—1 646.
 LEES L. H. — *J. Endocrinol.*, 1975, 67, 143—175.
 LOWITZ B. B. — Paraneoplastic syndromes, în: Haskell C.M. (Ed.), *Cancer Treatment*, Saunder's Company, Philadelphia-London-Toronto, 1980, p. 994—1 008.
 MEGYESI K., KAHN C. R., ROTH J. și colab. — *Arch. Intern. Med.*, 1974, 129, 447—456.
 MINNA J. D., BUNN P. A. jr. — Paraneoplastic syndromes, în: Devita V. T. și colab. (eds) *Cancer Principles and Practice of Oncology*, Lippincott Comp. Philadelphia-Toronto, 1982, 1 476—1 517.
 MYERS W. P. L. — *Cancer*, 1977, 27, 258—272.
 NORTH W. G., MAURER N., O'DONNELL J. F. — *Clin. Res.*, 1979, 27, 390 A.
 ODELL W. D., BATES R. W., RIVLIN R. S. și colab. — *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1963, 23, 658—668.
 ODELL W. D., WOLFSEN A. R. — *Ann. Rev. Med.*, 1978, 29, 379—406.
 ODELL W. D., WOLFSEN A. R., CACHELOT I. și colab. — *Amer. J. Med.*, 1979, 66, 631—638.
 ODELL W. D., WOLFSEN A. R. — *Amer. J. Med.*, 1980, 68, 317—318.
 RASKIN P., McCLAIN C. J., MEDSGER T. A. — *Arch. Intern. Med.*, 1973, 132, 539—543.
 RASSAM J. W., ANDERSON G. — *Thorax*, 1975, 30, 86—90.
 RICHARDSON R. L., GRECO F. A., OLDHAM R. K. și colab. — *Semin. Oncol.*, 1978, 5, 253—262.

26.

Manifestările nervoase paraneoplazice

C. ARSENI

În cursul evoluției unui cancer pot să apară diverse manifestări neurologice, consecutive creșterii tumorale, cu caracter evolutiv, fără să fie date de o metastază, leziunile histo-patologice din sistemul nervos fiind caracterizate printr-un proces degenerativ.

Guichard și colab. (1956) propun termenul „paraneoplazie”, care s-a înțelenit, iar Uehlinger (citată de Girard și Garde) de „tulburare metacarcinomatosa”.

Deși astfel de cazuri au fost descrise încă din 1894 de Oppenheim, Lubarsch (1897), Kippel (1899), Monsseaux (1902) etc., cercetările în acest domeniu au fost aproape părăsite, pentru că în ultimii 30 de ani să fie reluate cu mai multă intensitate de Denny-Brown (1948), Wyburn-Mason (1948), Lennox și Pritchard (1950), Henson (1954), Astrom, Mancal și Richardson (1958), care au propus termenul de „leucoencefalopatie multifocală progresivă”, complicație survenită în cursul leucemiei limfoide cronice și al bolii Hodgkin.

Richardson a continuat să studieze această problemă; în anul 1961 adunase 22 de cazuri. Au urmat apoi publicațiile lui Christensen și colab. (1961), Fischer și colab. (1961), Headington și Umiker (1962), Loken și colab. (1963), Weinstein și colab. (1963), Johnston și colab. (1963), Bethlem și colab. (1964), Elliot și colab. (1964), Boudin (1965), Henson și colab. (1965), Bickerstaff și colab. (1966).

Bariety și colab. (1964) definesc sindromul paraneoplazic ca un ansamblu de manifestări clinice variate (neurologice, hematologice, endocrine, osteo-articulare etc.), a căror exteriorizare este în raport cu existența unui cancer, evoluează paralel cu evoluția cancerului, dispăre o dată cu ablația tumorii maligne și reapar cu ocazia unei recidive sau a unei metastaze. Tot Bariety și colab. (1964) subliniază 3 caracteristici, pe care le consideră extrem de importante, și anume: predominanța clinică asupra manifestărilor tumorii primitive, diversitatea acestor manifestări și absența unui substrat histologic specific. Complicațiile neurologice paraneoplazice sînt rare, găsindu-se într-o proporție de 5% (Russel-Brain, 1963), de 3—5% (Furtado, 1960) și de 20% (Ziegler, 1955).

Toate tumorile maligne, inclusiv cele cerebrale, pot genera asemenea complicații, dar cele mai frecvente se găsesc în epiteliomul bronho-pulmonar cu celule mici, unde Bariety (1964) le găsește într-o proporție de 16,8, iar Croft și Wilkinson (1963) într-o proporție de 10%; asemenea manifestări

paraneoplazice s-au mai găsit în cancerule de sîn (Henson și colab.), rinichi (Arseni și colab.), prostată (Popovici și colab., 1977) etc. Dar în afara proceselor tumorale, asemenea manifestări au mai fost găsite și în afecțiuni de sistem ca: boala Hodgkin și leucemie (Pourquet, Edward și Richardson, 1964; Gravelleau și colab., 1961; V. Voiculescu și colab., 1969; Sibley și colab., 1965); disglobulinemii și mielom (Boudin, 1965), afectarea sistemului reticulo-endothelial (Cavanagh și colab., 1959).

Vîrsta la care pot să apară aceste complicații este diferită. Sub 30 de ani am găsit în literatura cercetată numai un caz publicat de Dickerstaff și colab. (1966), al unui tînăr de 22 de ani, cu carcinom hepatic. Între 30 și 40 de ani cazurile sînt rare, cel mai frecvent fiind întîlnite între 40 și 60 de ani. Sexul masculin este de 2—3 ori mai interesat.

În ceea ce privește modificările anatomo-patologice, acestea au fost studiate de Edward și Richardson (1964) (44 de cazuri de encefalopatii paraneoplazice), precum și de Victor (1964), Brain și Wilkinson (1965) (19 cazuri de degenerescență cerebeloasă subacută).

Modificările patologice variază cu sediul leziunii, astfel încît descrierea leziunilor se va face o dată cu clasificarea lor. Clasificările lui Brain și Adams (1964) și ale lui Bruyn și Joshua nu sînt cele mai corespunzătoare, deoarece nu au ținut seama de felul leziunii morfo-patologice.

Leziunile paraneoplazice pot afecta creierul (encefalopatie paraneoplazică), nervii (neuropatie paraneoplazică) și măduva spinării (mielopatie paraneoplazică). Considerăm mai corespunzătoare clasificarea făcută pe baza leziunilor anatomo-patologice. Sindroamele paraneoplazice cu manifestare neurologică se pot grupa astfel:

Encefalopatia paraneoplazică interesează creierul; în funcție de predominanța focarelor va fi împărțită în:

— *leucoencefalopatie multifocală progresivă*, care interesează în focare multiple substanța albă. Se întîlnește mai mult în leucoze;

— *poliencefalopatia difuză*: leziunile sînt în substanța albă, ca și în cea cenușie. În funcție de sediul predominant al leziunilor poate fi:

a) *Poliencefalopatie de emisferă cerebrală* cu varianta limbică (leziunea predominantă este în cortexul orbital, gyrus cinguli, hipocamp, amigdale).

Leziunile care apar în emisferele cerebrale și nucleii bazali se caracterizează prin prezența focarelor diseminate de demielinizare, cu relativă păstrare a cilindraxoanelor, leziuni care, atunci cînd sînt mai întinse, se văd și cu ochiul liber. Datorită acestor modificări, Edward și Richardson (1964) au introdus denumirea de leucoencefalopatie progresivă multifocală. Headington și Umiker (1962) au subliniat faptul că această afectare este mai mult decît o leucoencefalopatie, deoarece nu numai substanța albă este interesată în procesul patologic, ci și cea cenușie. Autori ca Henson și colab. (1965), Bickerstaff și colab. (1966), Brain și Adams (1964) etc. au constatat prezența leziunilor în paturile profunde ale cortexului cerebral, constînd în necroză și dispariția celulelor nervoase. Oricum, leziunile de demielinizare predomină. În multe cazuri (81%) (Edward și Richardson, 1964) s-au găsit astrocite gigante de reacție, cu deformări bizare ale nucleului și aspecte mitotice. Oligodendrocitele sînt și ele modificate uneori la periferia focarelor de demielinizare, prezentînd o mărire a nucleilor, o estompare a lor și incluzii anormale. S-au găsit și leziuni inflamatorii, caracterizate prin infiltrații limfocitare în leptomeninge, cortexul cerebral, substanța cenușie din măduvă și trunchiul cerebral, care formează manșoane perivas-

culare asociate cu noduli de proliferare microglială și, uneori, cu focare hemoragice (Ulrich și colab., 1967; Guibert, 1967; Corsellis și colab., 1963; Julien și Vital, 1969). Datorită faptului că acest aspect poate predomina uneori, s-a creat termenul de „encefalită sau encefalomielită paraneoplazică”, denumire sub care Henson și colab. au publicat în anul 1965, cinci asemenea cazuri, afirmând că etiologia ar fi virotică. Greenfield (1934), Brain și colab. (1964, 1965) au interpretat aceste modificări — aparent inflamatorii — ca reacții de degenerare a țesutului nervos.

b) *Encefalopatia cerebeloasă* (predomină degenerescența cortexului cerebelos). Leziunile care apar în cerebel în neoplazii cu diverse localizări au fost descrise cu mult înainte, dar legătura dintre ele a fost sugerată de Brauwer și Biemond (1938). Manifestările patologice au fost bine rezumate de Greenfield (1934), Victor (1964) și Boudin (1965). Ele constau într-o dispariție a celulelor Purkinje în proporții diferite, fără nici o tendință de a predomina la palio- sau neocerebral, întâlnindu-se variații de la o lamă la alta. Stratul granular, de asemenea poate fi interesat. Pot dispărea fibrele ce pleacă de la celulele Purkinje la nucleul dințat, dar celulele acestui nucleu sînt puțin afectate. Olivele sînt de obicei normale, deși uneori s-au găsit și aici leziuni degenerative. S-au mai descris leziuni degenerative ale pedunculilor cerebeloși, precum și modificări de aspect inflamator și activitate microglială difuză.

c) *Encefalopatia de trunchi cerebral*. Leziunile trunchiului cerebral sînt tot degenerative (demielinizare), localizate în special în celulele ganglionare ale nucleilor cranieni. Boudin și colab. (1964) au descris paraliziile succesive ale mai multor perechi de nervi cranieni. Cei mai atinși sînt nervii oculomotori și ai planșeului ventriculului IV. Planșeul ventriculului IV poate prezenta, uneori, modificări inflamatorii și numeroși noduli microgliali. La bulb și punte se pot găsi aceleași modificări. În toate aceste encefalopatii, în cazurile noastre, leziunea importantă este edemul cerebral și modificări degenerative, cu angajare de uncus hipocampic și amigdale cerebeloase, realizînd o encefalopatie paraneoplazică pseudotumorală.

Mielopatia paraneoplazică poate îmbrăca mai multe aspecte:

— Există o *formă cronică*: a) numai cu degenerare a fibrelor lungi; b) degenerarea fibrelor lungi este asociată și cu o degenerare a neuronilor, luînd aspectul de scleroză combinată a măduvei; acest aspect este frecvent întîlnit în cursul neoplaziilor viscerale și mai ales gastrice (10%) (Furtado); c) o altă formă cronică de mielopatie paraneoplazică, mai rar întîlnită, este cea cu leziuni ale neuronului motor, luînd aspectul unei scleroze laterale amiotrofice (Henson și colab.; Graveleau și colab.; Lallemand și colab.).

— *Forma subacută* de mielopatie este mielopatia necrotică subacută (Brain; Adams) sau mielomalacia canceroșilor (Lhermitte și colab.).

Neuropatia paraneoplazică poate fi: a) senzitivă (ganglioradiculară; b) motorie; c) mixtă (senzitivo-motorie).

Miastenia paraneoplazică poate îmbrăca: a) forma clasică de miastenie; b) forma frustă care reacționează la stimuli senzoriali; c) forma parcellară în zona centrilor.

Miastenia paraneoplazică a fost întîlnită în tumori maligne, în special în cancerle pulmonare cu celule mici (Lambert și colab., 1956; Anderson și colab., 1955, Castaigne și colab. 1969), în limfosarcom, cancer gastric, rectale (Serratrice și colab., 1968), prostatice (L. Popovici, 1977). I s-a dat numele de sindrom Eaton-Lambert.

Miopia paraneoplazică include și dermatomiozite și polimiozite.

Dacă studiem mai atent cazurile din literatură, putem observa că leziunea nu este localizată strict numai la o parte a sistemului nervos, ci îl cuprinde în totalitate, cu predominanță encefalică, cerebeloasă, medulară sau asupra nervilor periferici, iar terminologia propusă, precum și clasificările făcute nu fac altceva decât să atragă atenția asupra acestei predominanțe. Ba mai mult, se cunoaște faptul că organismul reprezintă un tot de organe, aparate și sisteme interdependente, iar modificarea unuia atrage după sine transformări în întregul organism. Deci, aceleași cauze patogenetice, generate de evoluția unui neoplasm, determină modificări nu numai la un singur sistem sau aparat, ci modifică întregul organism, cu predominanță asupra unei părți (sistem nervos, endocrin, muscular, hematopoietic etc.).

Simptomatologia depinde de sediul leziunii anatomo-patologice. În ceea ce privește simptomatologia clinică, aceasta este foarte variată, putând îmbrăca forma cu simptome de focar, deficitare sau iritative. Bolnavii noștri au prezentat o simptomatologie neurologică, fapt care a determinat internarea în Clinica de neurochirurgie, cu suspectare de metastaze cerebrale.

În poliencefalopatia difuză cu cointeresarea substanței cenușii există predominant simptome psihice. Tulburările psihice sînt variate, mergînd de la simpla confuzie, pînă la tulburări psihice accentuate. Tulburările psihice au fost prezente la toți bolnavii: bradipsihie, tulburări de comportament, precum și marcată agitație psihomotorie, cu stări agresive, alternînd cu scurte perioade de liniște.

În forma de degenerescență cerebeloasă subacută se constată fenomene cerebeloase.

În forma în care predomină leziunile de trunchi cerebral vor exista simptome de nervi cranieni.

Mielopatia necrotică paraneoplazică realizează clinic un tablou de mielită transversă cu paraplegie flască instalată brutal, abolirea reflexelor și anestezie globală cu limită superioară netă. Anatomic, se găsește un focar de necroză mai mult sau mai puțin întins. În această eventualitate va trebui diferențiată de o paraplegie dată de compresiunea arterelor nutritive radiculare prin tumoare paravertebrală sau obstrucția arterei radiculare prin embolie metastatică.

Miastenia paraneoplazică se evidențiază clinic prin sindromul Eaton-Lambert, caracterizat printr-un deficit motor predominant pe musculatura proximală și prin atingerea mușchilor oculari; prinderea mușchilor inervați de nervii bulbari este rară; deficitul este moderat, tranzitoriu. Pot să existe dureri musculare, rareori atrofii musculare.

Sindromul miasteniform poate fi găsit ca unica asociere a unei neoplazii sau se poate însoți de manifestări paraneoplazice diverse.

De mare importanță sînt explorările de stimulodectecție și probele farmacodinamice.

Pentru explicarea patogenică a modificărilor nervoase s-au emis mai multe ipoteze: cauze toxice (Oppenheim), alergice tumorale (McCombs și colab.), infecții virale reflexe, carențiale (vit. B și E), metabolice, endocrine, decompensarea unei stări abiotrofice latente preexistente; nici o explicație nu a reușit însă să aducă o lumină clară. Probabil că la producerea acestor leziuni concură nu numai un singur factor etiopatogenic, ci o multitudine.

Moartea se datorește cașexiei canceroase, dar și edemului cerebral, cu fenomene de angajare de trunchi cerebral (în formele pseudotumorale).

În concluzie, cancerul este o boală care, indiferent de localizare, afectează în ultimă instanță întreg organismul, iar sindromul paraneoplazic nu este decât o consecință a acestui fapt. Înseși tumorile cerebrale maligne pot da o encefalopatie paraneoplazică, ce duce la agravare în evoluția bolii.

Paraneoplazia poate predomina într-un sistem sau aparat.

Leziunile anatomo-patologice neurologice au un caracter degenerativ.

Factorii etiopatogenici care determină producerea unei paraneoplazii sînt multipli și incerti.

Moartea se datorește cașexiei canceroase și nu leziunilor neurologice. Sindroamele neurologice paraneoplazice pot constitui prima manifestare a unui cancer nedepistat.

Evoluția manifestărilor neurologice este legată de existența și evoluția neoplaziei.

Este important să se cunoască o asemenea entitate anatomo-clinică, pentru a evita erorile în stabilirea diagnosticului și în aprecierea prognosticului.

Bibliografie

- ARSENI C., CARP N., PIETRARU N., DĂNĂILĂ L., CONSTANTINESCU AL. I. — *Rev. Roum. Neurol.*, 1969, 6, 1, 79—83.
- ARSENI C., DĂNĂILĂ L., CARP N., DECU P. — *Neurologia (Buc.)*, 1970, 15, 6, 513—527.
- ASTROM K. E., MECAL E. L., RICHARDSON E. P. — *Brain*, 1958, 81, 93—111.
- BARIETY M., COURRY, CH., RULLIERE R. — *J. franç. Med. Chir. thor.*, 1964, 18, 1, 19—68.
- BETHLEM J., VON GOOL J., DEN HARTOG W. A. — *Acta neuropath. (Berl.)*, 1964, 3, 5, 525—528.
- BICKESTAFF E. R., ELABUTE E. A., WOLF A. L. — *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 1966, 29, 556—559.
- BOUDIN G. — Les syndrômes neurologiques paranéoplasiques In: Les syndrômes paranéoplasiques, Masson et Cie, Paris, 1965, p. 13—17.
- BOUDIN G., PEPIN B., BRAIN S. — *Bull. Mem. Soc. Med. Hôp. (Paris)*, 1961, 12—13, 490—499.
- BOUDIN G., PEPIN B., BRAIN S., LABET R., LAURAS A., LYON G. — *Presse méd.*, 1962, 14, 675—678; 20, 977—980.
- BRAIN L., ADAMS R. — A guide to the classification and Investigation of Neurological Disorders Associated with Neoplasms. In: The Remote Effects of Cancer on the Nervous System, Grune Stratton, New York, 1974, p. 216—222.
- BRAIN L., NORRIS F. jr. — The remote Effects of Cancer on the Nervous System (Contemporary Symposium), vol. I. Grune Stratton, New York — Londra, 1965, 230 p.
- BRAIN L., WILKINSON M. — *Brain*, 1965, 3, 465—478.
- BRAIN R., HENSON H. — *Lancet*, 1958, 11, 971.
- BRAIN R. — *Lancet*, 1963, 1, 179.
- BRAUWER B., BIEMOND A. — *J. belge Neurol. Psychiat.*, 1938, 28, 691—757.
- CAVANAGH J. B., GREENBAUM D., MARSHALL A. H. E., RUBINSTEIN L. J. — *Lancet*, 1959, 11, 524—529.
- CORSELLIS J. A. N., HOLDBERG J. G., NORTON A. R. — *Brain*, 1968, 9, 3, 481—496.
- CROFT P. B., WILKINSON M. — *Lancet*, 1963, 1, 184—188.
- D'AGOSTINO A. N., PEASE G. L., KERNOHAN J. W. — *J. Neuropath. exp. Neurol.*, 1963, 22, 138—147.
- DENNY-BROWN D. — *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 1948, 11, 1, 73—87.
- ELLIOT L., MANCALL REMEDIOS, ROSALES K. — *Brain*, 1964, 4, 87, 639—656.
- FISCHER C. M., WILLIAM V. H., WINW E. S. jr. — *Neuropath. exp. Neurol.*, 1961, 533—547.
- FURTADO D. — *J. de Medico*, Porto, 23 și 30, V. 1957.
- FURTADO S. — *Rev. oto-neuro-oftal. (B. Aires)*, 1960, 6, 364—375.
- GALLAI M., ECKHARDT A., AMBROZY G. — *Psychiat. et. Neurol. (Basel)*, 1963, 154, 356—368.

27.

Markeri biologici în cancer

RODICA RIȘCĂ • OTILIA BOJAN • T.H. GAVRILESCU • MONICA CRIȘAN

Cuprins

- 27.1. Introducere — 775
- 27.2. Clasificare și utilitate clinică — 776
- 27.3. Principalii markeri biologici cu valoare clinică — 779
 - 27.3.1. Proteine oncofetale sau de diferențiere — 779
 - 27.3.1.1. Antigenul carcino-embriionar (CEA) — 779
 - 27.3.1.2. Alfa-1-fetoproteina (AFP) — 781
 - 27.3.1.3. Antigenul oncofetal pancreatic (POA) — 782
 - 27.3.1.4. Antigenul tumoral-4 (TA-4) — 782
 - 27.3.2. Hormoni ectopici (substanțe hormon-like) — 782
 - 27.3.2.1. Gonadotrofina corionică umană (HCG) — 782
 - 27.3.2.2. Hormonul adrenocorticotrop (ACTH) — 783
 - 27.3.3. Enzime serice — 783
 - 27.3.3.1. Fosfataza alcalină placentară (izoenzima Regan) — 784
 - 27.3.3.2. Fosfataza alcalină osoasă — 784
 - 27.3.3.3. Fosfataza acidă serică și fosfataza acidă prostatică — 784
 - 27.3.3.4. Glicoziltransferazele (sialiltransferaza, galactoziltransferaza, fucoziltransferaza) — 784
 - 27.3.4. Proteine serice — 785
 - 27.3.4.1. Proteine monoclonale (M) — 785
 - 27.3.4.2. Glicoproteine — 786
 - 27.3.4.3. Poliamine — 788
- 27.4. Concluzii — 790

27.1.

Introducere

Un obiectiv esențial pentru clinica oncologică a fost și rămâne detectarea cu adevărat precoce a cancerelor, cu alte cuvinte, detectarea tumorilor în etapele preclinice. Acest deziderat s-ar putea realiza prin punerea în evidență a unor produși biologici tumorali, care să reprezinte „markeri” de malignitate. Până la ora actuală nu s-a descoperit un marker *specific* pentru cancer, cu valoare diagnostică discriminatorie între țesutul normal și țesutul malign.

Cercetările ultimilor ani au pus în evidență o mare diversitate de produși biologici elaborați de diferite tipuri de tumori maligne, cărora li s-a dat termenul global de markeri biologici în cancer.

În acest capitol ne-am propus o sumare și ierarhizare a markerilor tumorali în funcție de semnificația lor în diagnostic, prognostic și în monitorizarea

tratamentului. Nu vom discuta creșterea nivelurilor hormonale care însoțesc tumorile glandelor endocrine sau ale sistemului APUD, unde se știe că au valoare diagnostică certă.

27.2.

Clasificare și utilitate clinică

Markerii biologici sintetizați de țesutul tumoral și eliberați în sânge sau urină pot fi:

a) produși normali (hormoni, proteine, enzime etc.) sintetizați fie în exces, fie ectopic de diferite tipuri de tumori;

b) substanțe oncofetale, care în mod normal sînt produse în perioada embrionară și fetală;

c) antigene tumorale specifice (TSTA) sau antigene asociate tumorilor (TATA) (vezi capitolul imunologia tumorilor).

În caracterizarea malignă a celulelor canceroase s-au impus, cu valoare de markeri, unele modificări cromozomiale. Exemplul clasic îl reprezintă cromozomul Philadelphia, extrem de util în diagnosticul mieloleucozei cronice.

În tabelul 27. I am prezentat pe grupe de substanțe, principalii markeri biologici cunoscuți, utilizînd terminologia internațională.

TABELUL 27. I

PRINCIPALII MARKERI BIOLOGICI ÎN CANCER

Proteine oncofetale sau de diferențiere:

- 1 CEA (antigenul carcino-embriionar)
- 2 AFP (alfa-1-fetoproteina)
- 3 POA (antigenul oncofetal pancreatic)
- 4 TA-4 (antigenul tumoral — 4)
- 5 CALA (antigenul comun al leucemiilor limfatice acute sau antigenul Greaves)
- 6 EMA (antigenul de membrană epitelială)
- 7 BOFA (antigenul beta-oncofetal)

Hormoni și hormoni ectopici

- 1 ACTH sau precursori ai ACTH (big ACTH)
- 2 LPH (beta-lipotropina)
- 3 MSH (hormonul melanostimulator)
- 4 Gonadotrofine hipofizare:
 - FSH (hormonul foliculo-stimulant)
 - LH (hormonul luteotrop)
 - Prolactina
- 5 Hormonii placentari ectopici:
 - beta-HCG (gonadotrofina corionică)
 - Calcitonina
 - GH (hormonul de creștere)
- 6 ADH (hormonul antidiuretic)
- 7 PTH (hormonul paratiroidian)
- 8 TSH (hormonul tireotrop)
- 9 LATS (substanța tireostimulatoare cu acțiune lentă)
- 10 HPF (factorul hipoglicemiant insulin-like)
- 11 Glucagonul (factorul hiperglicemiant)
- 12 Calcitonina tiroidiană
- 13 Gastrina
- 14 Eritropoietina
- 15 CFS (factorul de stimulare a formării de colonii)
- 16 AUP (arginina, vasopresina)
- 17 VIP (peptide intestinale vasoactive), serotonina, histamina

Enzime și izoenzime

- 1 Fosfataza alcalină placentară (izoenzima Regan)
- 2 Fosfataza alcalină osoasă
- 3 Fosfataza acidă prostatică
- 4 Fosfataza acidă limfocitară
- 5 Glicoziltransferazele (sialiltransferaza, galactoziltransferaza, fucoziltransferaza)
- 6 5'-nucleotidaza
- 7 Aspartat și alanin-aminotransferaza
- 8 Fosfohexoizomeraza
- 9 Lactic dehidrogenaza
- 10 Gamma-glutamilttransferaza
- 11 Dezoxinucleotidil transferaza terminală

Proteine

- 1 Proteina M (monoclonală): IgG, IgA, IgM (macroglobulina Waldenström), Bence-Jones
- 2 Glicoproteinele
- 3 Poliaminele (putresceina, spermidina, spermina)
- 4 K-caseina
- 5 Feritina

Markeri cromozomiali

- 1 Cromozomul Philadelphia (Ph)
- 2 Translocția 8; 14 (8 q-14 q+)

De la început facem următoarele două sublinieri:

a) markerii descoperiți până la ora actuală sînt produși ai celulelor tumorale maligne, dar pot fi și consecința activității unor celule normale (în proliferare rapidă) sau implicate în diferite procese patologice benigne. Din acest motiv, rezultatele fals-pozitive sînt frecvente:

b) cantitatea de substanță marker elaborată de tumoare, în majoritatea cazurilor este direct proporțională cu volumul tumoral. Încercările de a face determinări ale markerilor tumoralii la o populație largă, cu scopul unui screening pentru cancer, pot să ducă la numeroase rezultate fals-negative sau fals-pozitive. Din acest motiv, metoda nu este utilizată ca tehnică de rutină în depistarea cancerului (UICC Workshop, 1980; Sugarbaker și colab., 1982).

Cu toate acestea, cercetările ultimilor ani au reușit să contureze utilitatea clinică potențială și aplicațiile reale ale markerilor tumoralii în următoarele situații:

a. depistare: determinarea unor markeri la populația cunoscută cu risc înalt pentru un anumit tip de cancer;

b. adjuvant în diagnosticul cancerului clinic manifest;

c. determinarea localizării unor cancere primare sau metastaze oculte (decelare radio-imună folosindu-se anticorpi antimarkerii corespunzători, marcați radioactiv și evidențierea fixării lor prin explorare scintigrafică computerizată) (UICC Workshop, 1980);

d. indicator preoperator al volumului tumoral;

e. indicator al stadializării și extinderii bolii;

f. monitorizarea tratamentului:

— evaluarea rezultatelor terapeutice,

— decelarea precoce a recidivelor și/sau metastazelor,

g. evaluarea prognosticului.

În limita posibilităților de care dispunem în prezent stabilirea corectă a unui diagnostic de cancer nu se poate efectua pe baza unui singur criteriu, cum

ar fi determinarea unor markeri biologici, deoarece rezultatele unor asemenea testări pot da următoarele situații: rezultate real-pozitive, fals-pozitive, real-negative sau fals-negative.

Dat fiind faptul că pe populații largi screening-ul în scop de depistare a bolnavilor cancerosi nu a dat rezultate, metoda a fost restrânsă numai la acele populații cunoscute ca avînd risc crescut pentru anumite forme de cancer (de exemplu, alfa-1-fetoproteina pentru hepatome). În lumina celor expuse este evident că rezultatele acestui screening trebuie completate cu investigații suplimentare, care să permită afirmarea existenței reale a unei tumori maligne (Gold și Shuster, 1980).

În mod practic, determinarea markerilor biologici a permis în prezent conturarea următoarelor concluzii de interes clinic:

- aprecierea prognosticului: s-a constatat că dacă în momentul diagnosticării unei tumori maligne există niveluri crescute ale unor markeri (de exemplu CEA), acestea se corelează frecvent cu recidive și/sau metastaze precoce;

- urmărirea eficienței terapeutice: postoperator, menținerea unor valori ridicate ale markerului determinat sugerează rezecție incompletă sau existența unor metastaze;

- depistarea recidivelor și/sau metastazelor: bolnavii la care inițial au fost constatate niveluri ridicate ale unui marker și la care valorile au revenit la normal pot fi monitorizați pentru evoluția bolii prin determinarea dinamică a acestuia. Reapariția unor niveluri ridicate ale markerului determinat sugerează prezența recidivelor sau a metastazelor.

Pentru o mai bună înțelegere a complexității biologiei markerilor, este necesar să amintim problema eterogenității populațiilor de celule tumorale. În evoluția unei tumori maligne intervin procese de selecție ale unor subpopulații de celule tumorale cu comportament biologic diferențiat față de celulele canceroase parentale (vezi capitolul celula canceroasă, țesutul malign). În cursul evoluției tumorale, numai unele din variantele celulare își câștigă capacitatea de secreție a unor substanțe marker. Din acest motiv, nu totdeauna cantitatea de markeri elaborată de tumoare se corelează cu volumul tumoral. În plus, există tumori capabile să secrete mai multe tipuri de markeri. În acest context, ideea determinării unei „baterii de markeri” ar putea să ducă la mai puține rezultate fals-negative sau fals-pozitive (Franchimont și colab., 1976).

Pe de altă parte, constituirea metastazelor se bazează pe selecționarea și migrarea unor variante celulare dotate cu potențial ridicat de metastazare. Aceste subpopulații celulare pot să-și piardă capacitatea de elaborare a markerilor. Din acest motiv, unele metastaze (chiar multiple și de dimensiuni mari) ale unei tumori primare producătoare de marker, pot să nu fie însoțite de creșterea valorii acestuia (Sherbet, 1970).

Cantitatea și calitatea celulelor tumorale joacă deci un rol de primă importanță în elaborarea markerilor. Există însă și alți factori care pot influența nivelul markerilor în sânge și anume: vascularizația masei tumorale, difuzibilitatea substanței, modul de eliberare din celulă, durata de viață a materialului sintetizat etc. Dacă markerul este antigenic și induce o reacție imună în organism, prin fixarea pe markerul corespunzător anticorpilor specifici formează complexe imune, avînd ca rezultat eliminarea mai rapidă a acestuia (Trestio-reanu și Mănescu, 1981).

În plus, și tehnicile de determinare joacă un rol hotărâtor în rezultatele obținute. În mod ideal, testele folosite ar trebui să îndeplinească unele condiții și anume:

— să dea rezultate calitative și cantitative diferite de cele obținute la subiecții normali sau necanceroși;

— să aibă un grad înalt de specificitate și sensibilitate, asigurându-se astfel rezultate reproductibile (Trestioreanu și Mănescu, 1981).

Din nefericire, aceste condiții nu sînt întrunite de nici una din modalitățile de testare utilizate pînă în prezent.

În capitolul de imunologie, biochimie oncologică și de control al creșterii tumorale sînt redată pe larg datele fundamentale legate de markerii tumorali (antigene, enzime, proteine cu acțiune hormon-like și alte substanțe secretate de tumoare), iar capitolul de genetică se ocupă de markerii cromozomiali.

În prezenta trecere în revistă vor fi discutate doar aspectele de semnificație clinică și concluziile de etapă asupra valorii utilizării celor mai uzuali markeri „la patul bolnavului”.

27.3.

Principalii markeri biologici cu valoare clinică

27.3.1.

Proteine oncofetale sau de diferențiere

Depistarea mai frecventă a proteinelor oncofetale este legată de tumorile din sfera tubului digestiv și a organelor anexe (fără a se exclude și alte localizări).

Deși unele tipuri tumorale sînt însoțite frecvent de creșterea nivelului anumitor proteine oncofetale, lipsa producerii acestui tip de proteine nu este o raritate și nu exclude diagnosticul de cancer (rezultate fals-negative). Dar, la cazurile cu celule tumorale producătoare de proteine oncofetale, nivelul acestora este proporțional cu volumul și evoluția tumorii. La asemenea cazuri se poate face o monitorizare eficientă a tratamentului în funcție de nivelul seric al proteinelor oncofetale. Comportamentul biologic al tumorii primare producătoare de proteine oncofetale se manifestă adesea și la metastazele acestor tumori.

În general, adenocarcinoamele gastro-intestinale produc în cantități mari antigen carcino-embrionar, celulele tumorale hepatice și tumorile derivate din sacul vitelin produc alfa-1-fetoproteină, iar cancerule pancreatice antigen pancreatic oncofetal.

27.3.1.1.

Antigenul carcino-embrionar (CEA)

De la supoziția inițială, conform căreia CEA ar fi o proteină cu structură moleculară uniformă produsă doar de cancerule de colon (Gold și Freedman, 1965), s-a ajuns la constatarea că substanțele încadrate imunoreactiv în categoria CEA corespund unei familii de molecule glicoproteice și sînt produse de multiple tipuri de cancer. Aceste glicoproteine sînt heterogene, dar capabile de reacții încrucișate datorită faptului că prezintă determinanți antigenici comuni (Banjo și colab., 1974; Matsuoka, 1976).

CEA se acumulează la suprafața celulelor tumorale, de unde difuzează în spațiul extracelular, pătrunzând apoi în sistemul circulator.

Există mai multe situații în care se constată creșterea CEA, fără ca aceasta să fie legată de prezența unui cancer (rezultate fals-pozitive):

a) în condiții normale, CEA este prezent în mucoasa colonului, în ficat, bilă și fecale (Elias, 1974);

b) în ser, o creștere a nivelului CEA se poate detecta în afecțiunile inflamatorii ale tractului digestiv (gastrite, enterite, colite) ale pancreasului sau în bronșitele cronice ale marilor fumători. Aceste niveluri serice crescute de CEA s-ar datora unor soluții de continuitate ale membranelor bazale epiteliale, ceea ce permite pătrunderea lor în sânge;

c) insuficiența de excreție a CEA prin căile biliare în duoden (litiază biliară obstructivă) sau imposibilitatea metabolizării CEA de către un ficat patologic (ciroză, hepatită etc.), ceea ce determină o menținere în exces a acestei substanțe în circulația sangvină. Din acest motiv, CEA poate fi ridicat și la alcoolici (Sugarbaker, 1982).

Aceste multiple cauze netumorale care determină creșteri ale CEA trebuie luate în considerare de clinician atunci când apreciază valoarea acestui test pentru monitorizarea clinică a bolnavului de cancer. Pentru diagnosticul diferențial cu afecțiunile netumorale sînt utile următoarele aspecte:

— de obicei, valorile plasmatice normale ale CEA sînt sub 2,5 ng/ml; valorile crescute de cauză netumorală sînt între 2,5 ng/ml și 10 ng/ml, iar valorile de peste 10 ng/ml sînt de cauză tumorală;

— dacă găsim valori medii (2,5—10 ng/ml), trebuie (într-o primă etapă) să excludem cauzele netumorale, iar ulterior să căutăm prin investigații complementare existența unui cancer ocult, cu toate că, în general, creșterea nivelului CEA este legată de un cancer în plină evoluție (manifest clinic);

— la determinări succesive ale titrului CEA, creșterea progresivă a acestuia indică originea tumorală, în timp ce persistența în platou este de obicei asociată cu o cauză netumorală;

— în suc duodenal excreția de CEA este peste 150 ng/min. atunci când secreția acestuia este crescută (cancer sau boli inflamatorii) și sub 150 ng/min. în cazurile cînd excreția sau metabolizarea sînt alterate (ciroză, sau litiază biliară obstructivă) (Sugarbaker, 1982);

— determinarea radio-imunologică a fracțiunii CEA-S dă mai puține rezultate fals-pozitive decît determinarea CEA (Nakamura și colab., 1978).

Numeroase date din literatură demonstrează că determinarea nivelurilor plasmatice ale CEA au o valoare reală în următoarele situații:

a) *aprecierea prognosticului*: nivelurile crescute de CEA preoperator se asociază frecvent cu recidive și/sau metastaze precoce, comparativ cu bolnavii cu niveluri joase de CEA (Concannon și colab., 1978). Astfel, la 65% din cazurile de cancer mamar operate, care aveau valori inițiale ale CEA peste 2,5—5 ng/ml, boala a reintrat în evoluție după 2 ani de la mastectomie, în timp ce doar 20% din bolnavii cu CEA inițial normal au făcut recidive sau metastaze în același interval de timp (Haagensen și colab., 1978; Myers și colab., 1978; Beatty și Terz, 1982);

b) *urmărirea eficienței terapeutice*: menținerea nivelurilor ridicate de CEA postoperator demonstrează rezecția incompletă a tumorii sau existența unor

metastaze (oportunitatea pentru second look și/sau investigații complementare pentru depistarea metastazelor). Pentru exemplificare, menționăm că din 60 de bolnavi cu cancer colo-rectal supuși unei intervenții chirurgicale datorită creșterii nivelului plasmatic al CEA, 59 făcuseră deja o recidivă sau au evoluat după scurt timp spre recidivă (Martin și colab., 1979);

c) *depistarea recidivelor și/sau metastazelor*: bolnavi la care inițial au fost detectate niveluri ridicate de CEA și la care postoperator nivelurile au revenit la normal, pot fi monitorizați pentru evoluția bolii. Creșterea din nou a valorilor CEA la două determinări succesive sugerează apariția recidivelor sau a metastazelor (Beatty și Terz, 1982).

27.3.1.2.

Alfa-1-fetoproteina (AFP)

AFP a fost identificată ca o componentă serică de tipul albuminei, prezentă în cantități apreciabile în sângele fetal și evidențiată de Abelev și colab. (1963) și în sângele șoarecilor cu carcinom hepatocelular experimental. Ulterior, Tatarinov (1972) remarcă valori crescute ale AFP serice și la bolnavii cu hepatome maligne. Posibilitatea determinării radio-imunologice a impus, în clinica oncologică, testarea AFP ca marker tumoral atât la cazuri cu carcinoame hepatocelulare, cât și la bolnavii cu alte tipuri de cancere.

Valorile normale ale AFP la adult sînt în limite foarte scăzute (20—40 ng/ml) (Waldman și McIntire, 1974; Voiculesc și colab., 1975).

Creșteri moderate, pînă la 500 ng/ml, au fost remarcate în afecțiunile hepatice însoțite de procese active de regenerare hepatică (hepatita acută și cronică, ciroze, stări după hepatectomie etc.) (Silver și colab., 1974). Alte situații netumorale în care s-au evidențiat creșteri ale AFP sînt: sarcina normală (creșteri tranzitorii) și sarcina cu făt malformat (valori mari și persistente) (Sugarbaker și colab., 1982).

Creșteri foarte exprimate ale valorilor AFP sînt patognomonice pentru carcinoamele hepatocelulare și pentru teratocarcinoamele ce conțin elemente tumorale cu originea în sacul vitelin (tumorile testiculare neseminomatoase, teratocarcinoamele ovariene). Masseyef și colab. (1972) afirmă că la valori de 400 ng/ml trebuie să se suspecteze un hepatom malign, iar valori de 2 000 ng/ml și peste, atestă aproape cu certitudine diagnosticul.

Waldman și McIntire (1974) găsesc valori crescute ale AFP și în alte tipuri de cancere, mai cu seamă în tumorile maligne ale tractului gastro-intestinal (cancer pancreatic, cancer gastric, cancer de colon).

Așa cum s-a menționat anterior, determinarea unor markeri poate fi utilă în depistarea cancerului la populații de risc. Sell și Becker (1978) raportează că în urma unui screening efectuat în China pe 490 000 de persoane, prin dozarea AFP s-au depistat 75 de cancere hepatice asimptomatice și doar 7 teste fals-pozitive. În aceeași ordine de idei se înscriu și observațiile lui Logerfo și Barker (1972) pe bolnavi africani cu cancere hepatice, la care în 80% s-au găsit valori crescute ale AFP, în timp ce la bolnavii europeni și americani doar în 30% din cazuri. Autorii afirmă că aceste diferențe ale valorilor AFP ar putea fi dependente de factorii etiologici diferiți responsabili de apariția hepatomelor la populațiile examinate.

27.3.1.3.

Antigenul oncofetal pancreatic (POA)

POA a fost identificat în serul bolnavilor cu cancer pancreatic de Banwo și colab. (1974), testul fiind pozitiv la 60% din acești bolnavi. Specificitatea acestui test pentru cancerul pancreatic este mare, testul pozitiv fiind aproape concludent pentru diagnostic.

Absența unui nivel crescut de POA nu exclude însă diagnosticul de cancer pancreatic, deoarece s-a constatat că în 40% din cazuri rezultatele sînt false negative.

27.3.1.4.

Antigenul tumoral-4 (TA-4)

Kato și Torigoe (1977) au pus la punct o tehnică radio-imunologică de testare a unui antigen seric tumoral (TA-4) în carcinomul spinocelular al colului uterin. Nivelul acestui antigen, încă insuficient caracterizat, este crescut în serul bolnavilor cu stadii avansate ale cancerului de col uterin. Deși în depistarea precoce nici acest antigen nu și-a demonstrat utilitatea, totuși, nivelurile ridicate ale acestuia sugerează extensiunea bolii, fapt nu totdeauna evidențiat numai pe baza examenului clinic.

27.3.2.

Hormoni ectopici (substanțe hormon-like)

În evoluția unei tumori, producția de hormoni are semnificație diferită, după cum este vorba de o tumoare cu originea într-un țesut neuro-endocrin (celelele tumorale și-au păstrat proprietatea hormono-secretantă) sau cu originea într-un țesut care în mod normal nu are funcție endocrină (celelele tumorale au cîștigat capacitatea de a produce ectopic hormoni sau substanțe similare hormonilor, substanțe hormon-like).

Deoarece aceste substanțe (hormoni sau hormon-like) pot fi dozate în sînge, reflectînd cantitatea de țesut tumoral cu funcție endocrină (sau cu funcție asemănătoare secreției endocrine), ele sînt de fapt markeri ai prezenței și evoluției acestui tip de tumori.

Vom exemplifica valoarea clinică de marker tumoral a hormonilor ectopici, luînd în discuție gonadotrofina corionică umană, „marker ideal” în boala trofoblastică gestațională și ACTH-like, produs de unele cancere și în primul rînd de cancerul pulmonar cu celule mici („în boabe de ovăz”) (pentru informații suplimentare în legătură cu hormonii ectopici, vezi cap. Biochimia cancerului și sindroamele paraneoplazice).

27.3.2.1.

Gonadotrofina corionică umană (HCG)

HCG (Human chorionic gonadotropin) este considerată un „marker ideal” pentru tumorile trofoblastice și reprezintă principalul criteriu în monitorizarea tratamentului. Deoarece determinarea radio-imunologică obișnuită dozează în cadrul aceleiași valori atât HCG, cît și LH (hormonul luteinizant), s-a pus la punct dozarea subunității beta a moleculei de HCG, rezultatul acestei determi-

nări reprezentând doar sursa trofoblastică (extrahipofizară) a hormonului (Rutanen și colab., 1976).

Cu toate că HCG poate fi produs și de tumorile testiculare ne seminomatoase, tumorile ovariene, hepatice, gastrice și mamare, importanța clinică a dozării acestuia este clar dovedită doar în boala trofoblastică gestațională. În mod practic, prezența beta-HCG în serul bolnavelor tratate arată persistența tumorii și impune continuarea tratamentului. Dispariția de durată a beta-HCG (sau reducerea HCG la valorile producției hipofizare) permite luarea deciziei de suprimare a tratamentului citostatic la aceste bolnave cu tumori trofoblastice.

27.3.2.2.

Hormonul adrenocorticotrop (ACTH)

Constatarea privind posibilitatea producerii de ACTH sau pre-ACTH (fig. 27.1) de către tumorile pulmonare, gastrointestinale etc., în special când este asociată și cu producerea de LPH (beta-lipotropină), a determinat introducerea dozării radio-imunologice a acestor substanțe atunci când se suspectează existența unor asemenea tumori.

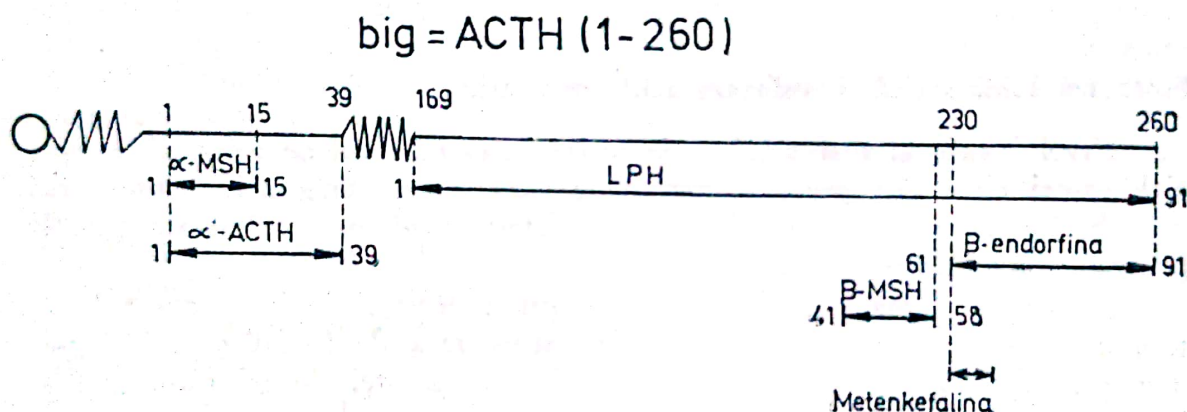


Fig. 27.1. — Schema structurii big ACTH format din 260 de aminoacizi. Sînt reprezentate moleculele de α - și β -MSH; α -ACTH; LPH; β -endorfina și metenkefalina, precum și poziția lor în interiorul moleculei de big ACTH.

Odell și colab. (1979) au găsit creșteri semnificative ale pre-ACTH/LPH în 92% din cancerle pancreatice, 72% din cancerle pulmonare, 54% din cancerle gastrice și esofagiene, 41% din cancerle mamare și 27% din cancerle de colon.

Asemănător cu proteinele oncofetale, concentrațiile sangvine ale pre-ACTH pot să crească și în condiții netumorale, cum ar fi bolile pulmonare cronice.

27.3.3.

Enzime serice

Activitatea unor enzime serice se modifică în cursul bolii canceroase, atât prin creșterea sau scăderea nivelului lor seric, cît și prin apariția unei producții ectopice în anumite tipuri de tumori.

27.3.3.1.

Fosfataza alcalină placentară (izoenzima Regan)

Fosfataza alcalină placentară este crescută în 40% din seminoamele testiculare și a fost demonstrată sinteza ectopică a acesteia de către diverse tumori (Gold și Shuster, 1980). Cu toate acestea, doar la jumătate din cazurile cu niveluri ridicate ale fosfatazei alcaline placentare sînt crescute și valorile fosfatazei alcaline serice totale. Din aceste motive, se impune o investigare specifică a fosfatazei alcaline placentare (izoenzima Regan).

27.3.3.2.

Fosfataza alcalină osoasă

Prezența unei hiperfosfatazemii alcaline în cursul evoluției unor osteosarcoame indică un prognostic rezervat, remarcîndu-se tendința aproape constantă la metastazare pulmonară. Nivelurile postoperatorii ale fosfatazei alcaline în osteosarcom nu au semnificație pentru aprecierea recidivei sau metastazei, deoarece reluarea evoluției bolii se face cu o masă tumorală insuficientă pentru a influența semnificativ valorile fosfatazei alcaline circulante.

27.3.3.3.

Fosfataza acidă serică și fosfataza acidă prostatică

Nivelul seric al fosfatazei acide crește în carcinomul de prostată, în special atunci cînd sînt prezente metastaze osoase. Fosfataza acidă crește însă și în hemoliză sau procesele de citoliză, determinînd un rezultat fals-pozitiv pentru cancerul de prostată.

Izolarea fosfatazei acide specifice țesutului prostatic a făcut posibilă determinarea ei radio-imunologică discriminativă față de fosfataza acidă pulmonară, hepatică, pancreatică etc. Sensibilitatea acestei dozări radio-imunologice este atît de mare, încît pot fi depistate jumătate din cazurile de cancer de prostată cu evoluție încă locală, față de metoda biochimică care putea evidenția doar 10—20% din aceste tumori (Watson și Tang, 1980).

Dozarea radio-imunologică a fosfatazei acide prostatice nu s-a impus pentru acțiunea de screening, deoarece rezultatele fals-pozitive sînt frecvente.

27.3.3.4.

Glicoziltransferazele (sialiltransferaza, galactoziltransferaza, fucoziltransferaza)

Glicoziltransferazele reprezintă un grup de enzime ce participă în biosinteza glicoproteinelor (Stewart, 1982). S-au semnalat modificări ale glicoziltransferazelor în serul bolnavilor cu diferite neoplazii maligne. Khilanani și colab. (1978) evidențiază valori plasmatice crescute ale fucoziltransferazelor în limfoamele ne Hodgkiniene, iar Chatterjee și colab. (1978) remarcă creșterea nivelului galactoziltransferazei în serul bolnavilor cu cancer ovarian. În ceea ce privește sialiltransferaza, rezultatele lui Dao și colab. (1980) demonstrează că în cancerul mamar valorile acestei enzime cresc paralel cu evoluția bolii.

27.3.4.

Proteine serice

27.3.4.1.

Proteine monoclonale M

Proteinele M, cunoscute și sub vechea denumire de paraproteine, apar în sângele și urina bolnavilor cu mielom multiplu la 98% din cazuri și din acest motiv, anterior au fost considerate patognomonice pentru această boală. Sînt reprezentate de proteinele: Bence-Jones, mielomatoase, macroglobulinele Waldenström și subunități ale acestora, fiind imunoglobuline (Ig) sau fracțiuni de imunoglobuline, omogene, produse de o singură clonă de plasmocite proliferate malign. În ultimii ani se preferă denumirea de proteine M (M de la monoclonal) sau de imunoglobuline M, componente M. Caracterul monoclonal al acestor imunoglobuline este demonstrat de faptul că posedă un singur tip de lanț greu (γ , α , μ , δ sau ϵ) și un singur tip de lanț ușor (λ sau K) (Crișan, 1982).

La bolnavii cu mielom multiplu apare pe primul loc în ordinea frecvenței IgG, urmată de IgA, rar IgD (1% din cazuri) și extrem de rar IgE. În boala Waldenström proteina M este de natură IgM. Foarte frecvent, la bolnavii la care se constată în ser prezența unuia din tipurile de proteină M amintită, se găsește și o excreție urinară crescută de componentă monoclonală, denumită proteina Bence-Jones și care reprezintă lanțurile ușoare ale imunoglobulinelor (Crișan, 1982).

Deși proteinele M sînt un marker de valoare pentru proliferări maligne ale plasmocitelor (mielom, boala Waldenström), ele nu pot fi utilizate ca test de screening. S-a constatat că din bolnavii care au prezentat acest marker, doar 50,8% aveau mielom și 3,6% boală Waldenström, restul prezentînd alte limfoproliferări maligne, cancere solide, alte afecțiuni sau BMG. În 9,5% din cazurile cu proteină M s-au constatat diverse tipuri de limfoproliferări maligne: leucemia limfatică cronică, limfoame difuze bine diferențiate, boala lanțurilor grele, boala lanțurilor ușoare (boala Bence-Jones), amiloidoza primară imunoglobulinică (Bergsagel și Rider, 1982). În plus, dacă la bolnavii cu mielom multiplu componenta M este prezentă în 98% din cazuri, în mielomul solitar ea este mai rară, iar în plasmocitoamele extramedulare apare doar la mai puțin de 30% din bolnavi. Din bolnavii cu tumori solide (5,8—16% din cazuri) frecvența cea mai mare de apariție a proteinei M a fost observată în cancerele rectosigmoidiene, de prostată și mamare. Prezența proteinelor M în alte afecțiuni necanceroase (colagenoze) și mai ales la subiecții asimptomatici cu gammapatie monoclonală benignă (BMG) limitează utilitatea acestui marker în depistările în masă (Bergsagel și Rider, 1982). În schimb, el este deosebit de util în evaluarea răspunsului la tratament, depistarea recidivelor și aprecierea prognosticului bolii.

a) Pentru evaluarea răspunsului terapeutic la bolnavii cu mielom se utilizează indicii de sinteză a proteinei M, care s-a dovedit a fi parametrul cel mai util. La bolnavii la care se obține o scădere a acestui indice pînă la valori mai mici decît 10% din nivelurile preterapeutice supraviețuirea este mai bună decît la cei la care indicele se reduce la 10—24% și mult superioară celor cu scădere la 25—49% din valorile inițiale (Petrov, 1982). Dacă se obține doar un indice de 50% sau peste 50% din valoarea lui preterapeutică, nu se realizează o prelungire a supraviețuirii.

b) După tratamente eficiente proteina M scade progresiv, menținându-se apoi stabilă, în platou, la niveluri scăzute, similare celor observate în gamapatiile monoclonale benigne (> 1 g/100 ml ser). Creșterea componentei M în ser și/sau urină indică recidiva bolii.

c) Rata de sinteză a acestui marker reprezintă unul dintre cei mai utili parametri în stadializarea bolii (Bergsagel și Rider, 1982; Petrov, 1982). În plus, există o corelație între prognosticul bolii și natura proteinei M. Supraviețuirile cele mai bune sînt în mieloamele IgG urmate, în ordine, de IgA, IgD și boala lanțurilor ușoare (boala Bence-Jones). Se pare că și compoziția imunoglobulinelor monoclonale are importanță, prognosticul fiind mai bun dacă imunoglobulina conține lanțul Kappa (K) decît dacă posedă lanțul Lambda (λ), (Vivacqua, 1979).

27.3.4.2.

Glicoproteine

Nivelul glicoproteinelor serice este semnificativ crescut la bolnavii cu tumori maligne, comparativ cu subiecții normali, dar, ca și în cazul celorlalți markeri descriși anterior, modificări asemănătoare se pot întîlni și în alte afecțiuni, ca: tuberculoză, reumatism, boli renale, litiază biliară etc.

Studii experimentale au evidențiat posibilitatea sintezei unor glicoproteine în celulele tumorale (Macheth și colab., 1973; Silverman și colab., 1977). Din acest motiv, urmărirea nivelurilor unor fracțiuni glicoproteice din ser (alfa-1-glicoproteina acidă, haptoglobina) sau a componentelor glucidice din glicoproteine (fucoză și acid sialic) poate fi utilă în aprecierea evoluției bolii, apariției recidivelor și metastazelor, precum și în monitorizarea tratamentului (Rosato și colab., 1970; Mhrocek și colab., 1976; Wallach și colab., 1975; Chiricuță și colab., 1980).

Astfel, s-a constatat că există o corelație între nivelul haptoglobinei și alfa-1-glicoproteinei acide (orosmuroid) și stadiul evolutiv al unor hemopatii maligne (boala Hodgkin) sau tumori solide (Jayle și colab., 1968; și Chiricuță și colab., 1979, 1980).

Din componentele glucidice ale glicoproteinelor serice, acid sialic, fucoză, galactoză, manoză, primele două s-au dovedit a fi markeri biochimici în unele forme și localizări tumorale. Astfel au fost evidențiate creșteri ale nivelului acidului sialic în serul bolnavilor cu diferite tipuri de tumori maligne (osteosarcom, melanom, cancer mamar, cancer ovarian, hemopatii maligne) (Brozmanova și colab., 1974; Bradley și colab., 1977; Silver și colab., 1978; Chiricuță și colab., 1979; Hogan-Ryan și colab., 1978; Silver și colab., 1981).

În cancerul mamar fucoză se pare că reprezintă markerul biochimic cel mai fidel în aprecierea stadiului evolutiv al bolii (Mhrocek și colab., 1976; Chiricuță și colab., 1979). Ca și în cazul celorlalți markeri biologici, fucoză nu poate fi utilizată ca test de screening în depistarea cancerului. Chiricuță și Bojan (1979) au constatat că la 73% din bolnavii cu tumori mamare maligne și numai la 18% din cele cu tumori benigne au loc creșteri ale nivelului fucosei serice peste limita superioară a normalului (12 mg%) (fig. 27.2).

În stările fiziologice ale glandei mamare nu au fost remarcate rezultate fals-pozitive la fucoză, spre deosebire de acidul sialic, care crește semnificativ și în lăuzie (Chiricuță și colab., 1979). Dozarea fucosei serice poate fi utilă în:

a) screeningul populației cu risc crescut de cancer mamar, deoarece nivelurile peste limita superioară a normalului apar mai frecvent la primele stadii evolutive ale bolii, comparativ cu cele ale acidului sialic și CEA* (fig. 27.3).

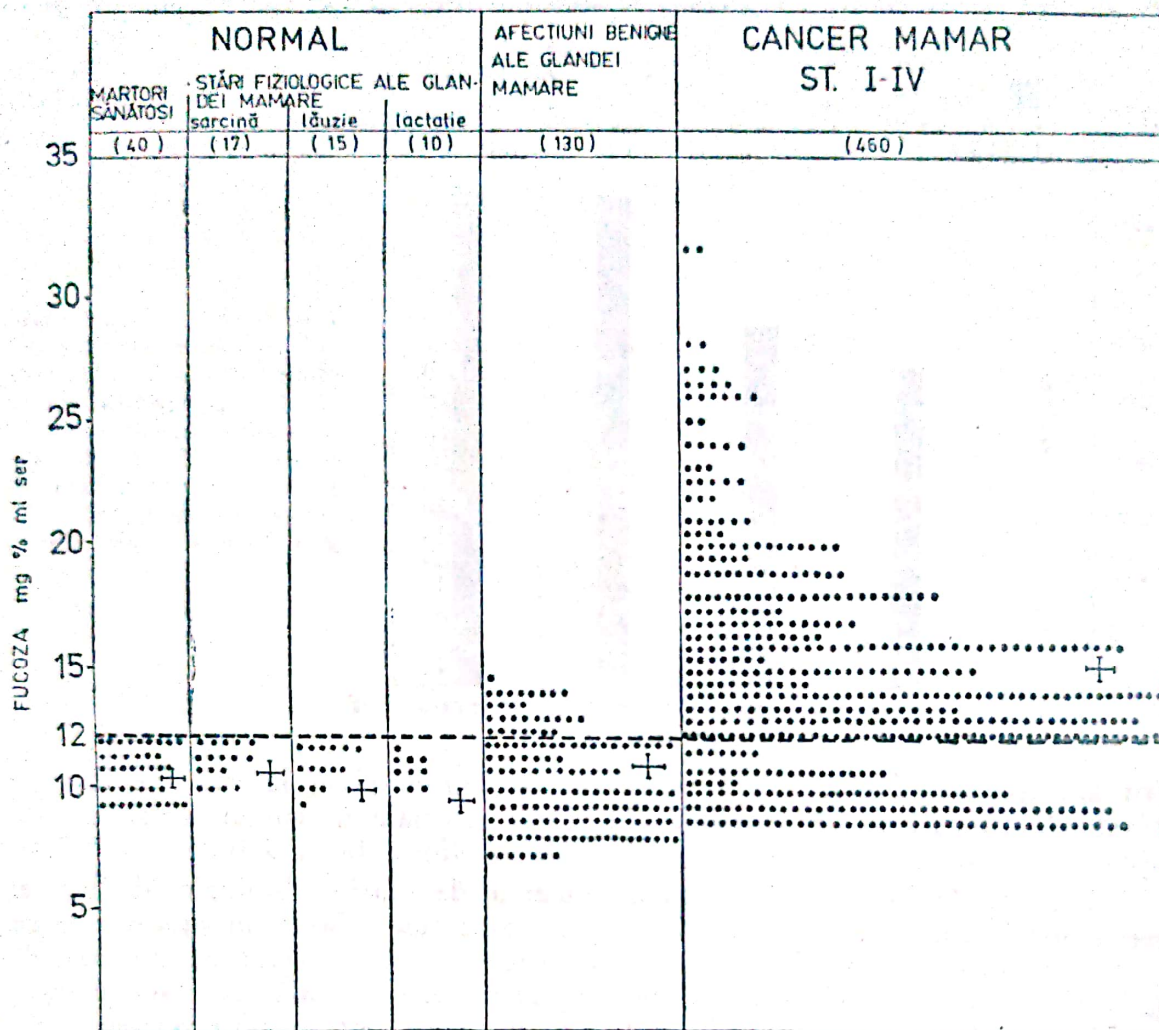


Fig. 27.2. — Valorile fucozei serice la subiecți sănătoși și la bolnave cu tumori benigne și maligne ale glandei mamare.

b) aprecierea prognosticului bolii:

— incidența recidivelor și/sau metastazelor este preponderent mai mare la bolnavele la care există niveluri ridicate ale fucozei preoperator, comparativ cu cele cu niveluri mai joase;

— fucoza este mai frecvent crescută și valorile atinse sînt mai ridicate la cazurile în care ganglionii omolaterali sînt invadați metastatic, față de cele cu ganglioni neinvadați. Și în această privință, fucoza este superioară ca marker comparativ cu acidul sialic;

c) urmărirea eficienței terapeutice: la majoritatea bolnavelor la care se mențin valori crescute ale fucozei după terapie sînt prezente metastaze sau recidive. La aceste cazuri sînt necesare investigații complementare, care să evidențieze metastazele, adesea subclinice;

* CEA (date din Hogan-Ryan și colab., 1980)

d) depistarea recidivelor și/sau metastazelor: la bolnavele la care după terapie valorile fucozei revin la normal și după un timp se constată creșteri ale nivelului acesteia mult peste limita superioară a normalului, acest comportament al concentrației fucozei serice constituie un semnal de alarmă pen-

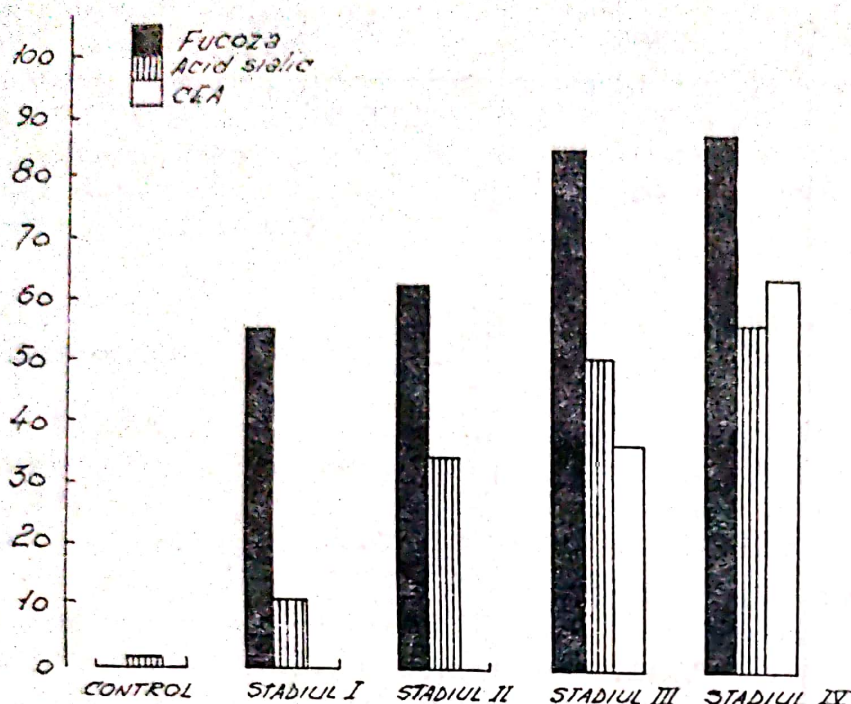


Fig. 27.3. — Valorile procentuale ale markerilor biochimici (fucoză, acid sialic și CEA) pe stadiile evolutive ale cancerului mamar. Pentru CEA limita superioară a normalului s-a considerat 10 ng/ml (Hogan-Ryan și colab., 1980).

tru apariția recidivelor sau a metastazelor. Dimpotrivă, la cazurile la care nivelurile fucozei serice se mențin în limite normale în cursul tratamentului aplicat, aceste valori se corelează cu evoluția clinică bună a bolii (fig. 27.4).

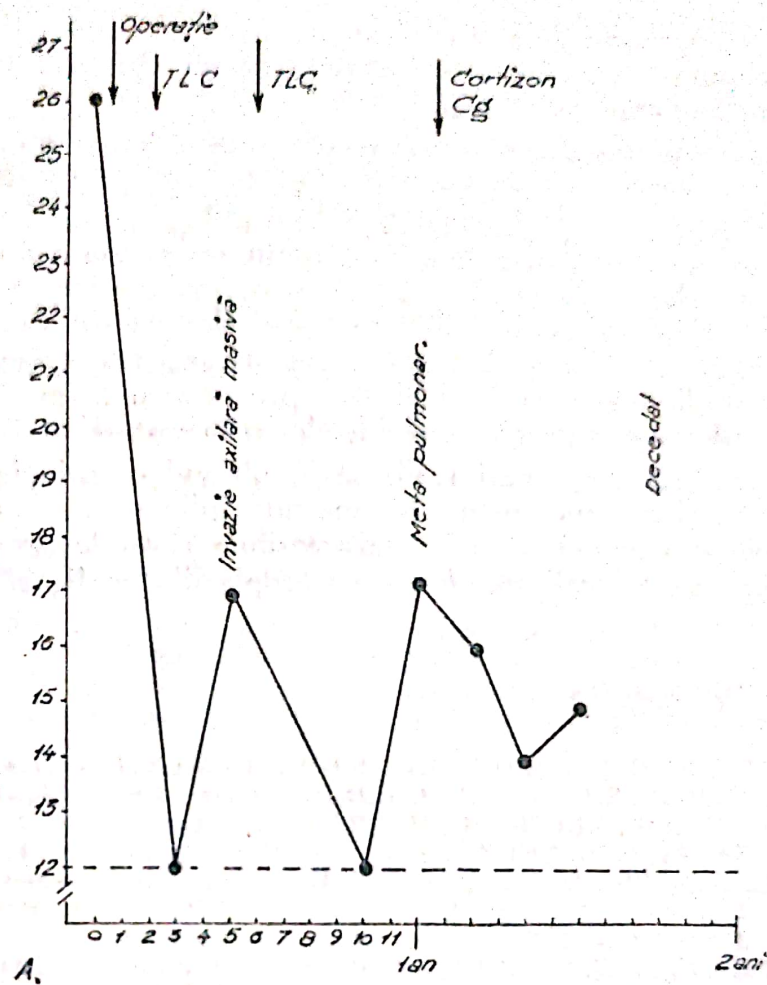
Rezultatele noastre evidențiază valoarea de marker biologic al fucozei serice în determinarea volumului tumoral, extensiunii bolii, în monitorizarea tratamentului, precum și în evaluarea prognosticului. Faptul că metoda de testare nu este costisitoare și nu necesită aparatură specială, putându-se efectua într-un laborator clinic obișnuit, este un argument în plus pentru utilizarea acestei tehnici.

27.3.4.3.

Poliamine

Creșterea nivelului poliaminelor (putresceina, spermina și spermidina) a fost constatată în unele localizări ale cancerului, precum și în alte procese, caracterizate prin proliferare rapidă (ficat în regenerare). Utilizarea acestor markeri biochimici în diagnostic și monitorizarea tratamentului a dat rezultate în limfomul Burkitt, leucemia acută, mielomul multiplu, cancerul colorectal și pulmonar. Se pare că cele mai bune rezultate au fost obținute prin dozarea poliaminelor în lichidul cefalo-rahidian în cazul gliomelor și meduloblastomelor, unde rezultatele real-pozitive se ridică la un procent de 90% (Marton și Seidenfeld, 1981) (pentru detalii suplimentare, vezi capitolele: „Biochimia cancerului” și „Controlul creșterii tumorale”).

M.J. 42 ani
Cc. mamar st. III T₃ N₁ Mo



C.J. 64 ani

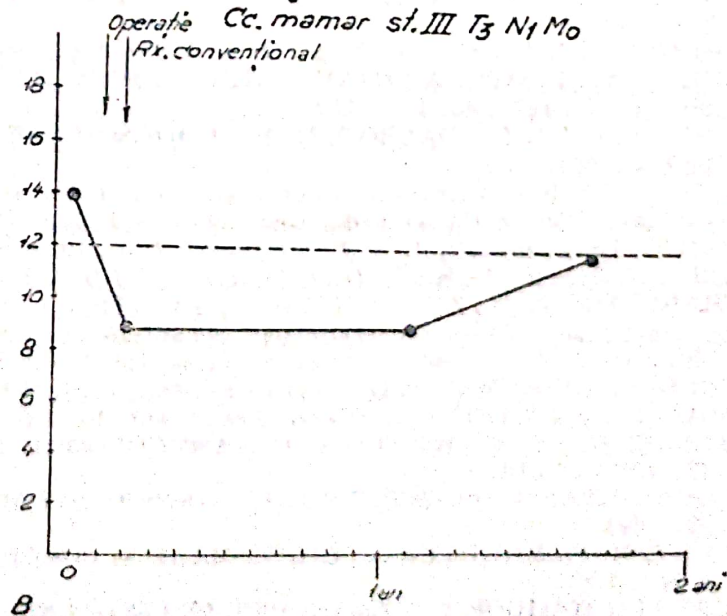


Fig. 27.4. — Dinamica valorilor fucozei serice la două cazuri de cancer mamar. (A) Creșterea nivelului fucozei serice corespunde cu confirmarea clinică și radiologică a metastazelor loco-regionale și la distanță. (B) Nivelul scăzut al fucozei serice se menține pe toată perioada de urmărire și se corelează cu evoluția clinică bună.

- KHILANANI P., CHOU T., RATANATHARATHORN N. V., KESSEL D. — *Cancer*, 1978, 41, 701—705.
- LOGERFO P., BARKER H. G. — *Surg. Clin. N. Amer.*, 1972, 52, 829—837.
- MACRETH R. A. L., BORMAN M. G., GELLATY S. — *Canad. J. Pharmacol.*, 1973, 51, 437—441.
- MARTIN E. W., COOPERMAN M., CAREY L. G. ŞI COLAB. — Sixty second look procedures indicated primarily by rise in serial CEA. Abstract presented at thirteenth Annual Meeting Association for Academic Surgery, 1979, nov.
- MARTON L. S., SEIDENFELD J. — Approaches to the study and medicine, Morris D. R., Marton L. J. (eds.) Ed. Marcel Dekker Inc. New York, 1981.
- MASSEYEFF R. — *Pathol. Biol.*, 1972, 20, 703—725.
- MATSUOKA YUJI — Cancer specificity problems of carcinoembryonic antigen, in: *Cancer related antigens*, Ed. Paul Franchimont, North-Holland Publishing Comp. Amsterdam, New York, Oxford, 1976, p. 3—12.
- MIROCEK S. E., DINSMORE S. R., TORMEY D. C., WALKES T. P. — *Clin. chem.*, 1976, 22, 1 516—1 521.
- MYERS R. E., SUTHERLAND D. J., MEAKIN J. W. ŞI COLAB. — *Cancer*, 1978, 42, 1 520—1 526.
- NAKAMURA R. M., PLOW E. F., EDGINGTON T. S. — *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 1978, 8, 8—10.
- ODELL W. D., WOLFSEN A. R., BACHELOT I., HIROSE F. M. — *Amer. J. Med.*, 1979, 66, 631—638.
- PETROV L. — Gammapatiile monoclonale. Mielomul multiplu. Macroglobulinemia Waldenström, in: *Cancerul, Hemopatii Maligne. Colecția Enciclopedia Oncologică vol. X*, 1982 p. 371—398.
- ROSATO F. E., SELTZER M., MULLEN J., ROSATO E. F. — *Cancer*, 1971, 28, 1 575—1 579.
- RUTANEN E. M., STENMAN U. H., NIEMINEN U. ŞI SEPPÄLÄ M. — Human chorionic gonadotrophin and carcinoembryonic antigen in nontrophoblastic tumors of the female genital tract, in: P. Franchimont (ed) *Cancer Related Antigens*, North-Holland Publ. Comp., 1976, p. 169—177.
- SELL S., BECKER F. F. — Alphafetoprotein, *JNCI*, 1978, 60, 19—26.
- SHERBET G. V. — *Advanc. Cancer. Res.*, 1970, 97—167.
- SILVER H. K. B., DENEALD J., GOLD P. — *Cancer Res.*, 1974, 34, 244—247.
- SILVER H. K. B., KANGEL D. N., MORTON D. L. — *Cancer*, 1978, 41, 1 497—1 580.
- SILVER H. K. B., KARIM K. A., SALINAS F. A., SWENERTON K. D. — *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1981, 153, 209—213.
- SILVERMAN L. M., DENNER G. B., TOKAS Z. A. — *Clin. Chem.*, 1977, 23, 2 055—2 058.
- SUGARBAKER P. H., DUNNICK N. R., SUGARBAKER E. V. — Diagnosis and staging, in: *Cancer, Principles and Practice of Oncology*, DeVita V. T., Hellman S., Rosenberg S. A. (eds.), Ed. Lippincott Comp., 1982, p. 226—263.
- STEWART J. F., RUBENS R. D., HOARE S. ŞI COLAB. — *Brit. J. Cancer*, 1982, 46, 208—212.
- TATARINOV Y. — *Vopr. Med. Khim.*, 1972, 10, 90—91.
- TRESTIOREANU AL., MĂNESCU AL. — Stadiul actual al studiilor privind markerii celulari în carcinomul glandei mamare. În: *Cancerul Sînului (experiența românească). Semicentenarul I.O.C.-N. Colecția Enciclopedia Oncologică*, 1981, p. 153—159.
- * * * — UICC Workshop: Radioimmunodetection of cancer. — *Cancer Res.*, 1980, 40, 2 953—3 087.
- VIVACQUA R. J. — Dysimmunoglobulinemias, in: *Internal Medicine Update (1979—1980)*. Coodley E. L. şi colab. (eds.), Ed. Grune & Stratton Inc., 1979, p. 233—253.
- VOICULET N., PERCEC M., RADVAN M., STIHI G. — *Oncologia (Buc.)*, 1975, 14, 281—288.
- WALDMANN T. A., Mc. INTIRE K. R. — *Cancer*, 1974, 34, 1 510—1 515.
- WALLACK M. K., BROWN A. S., ROSATO E. F. ŞI COLAB. — *Bull. Intern. Chir.*, 1975, 34, 449—502.
- WATSON R. A., TANG D. B. — *New Engl. J. Med.*, 1980, 303, 497—499.

28.

Vîrsta și cancerul

I. CHIRICUȚĂ

Cuprins

- 28.1. Incidența cancerului în funcție de vîrstă — 794
- 28.2. Predispoziția unor vîrste pentru anumite tipuri de cancer — 796
- 28.3. Relația dintre îmbătrînire și cancer — 799
- 28.4. Influența vîrstei asupra curbei specifice de cancerizare a fiecărui organ — 800
- 28.5. Vîrsta și cele două forme epidemiologice ale cancerului mamar — 802
- 28.6. Vîrsta și cancerul de prostată — 804
- 28.7. La adulți predomină tumorile epiteliale, iar la tineri cele mezenchimale și embrionare — 806
- 28.8. Există vîrste nefavorabile evoluției cancerelor? — 810

Corelația dintre vîrstă (etapă a vieții, care se succede în timp), fenomen biologic natural și boala canceroasă, fenomen patologic incidental, pare să fie foarte strînsă.

Dacă fiecare vîrstă își are coordonatele metabolice caracteristice*, dacă fiecare vîrstă își are un echilibru biologic (bio-molecular, endocrin, imunologic, umoral, tisular etc.) oarecum caracteristic, dacă țesutul cancerizat și organismul purtător de tumoare manifestă grave perturbări metabolice (ritm de sinteză proteică accelerat, echilibru enzimatic dereglat, modificări profunde electrono-optice ale organelor celulare, modificări hormonale și imunologice ce preced și însoțesc oncogeneza etc.), este imposibil să nu intuim și să nu căutăm interferențele și corelațiile strînse care ar putea să existe între aceste două metabolisme, cel normal, caracteristic fiecărei etape a vieții, și cel patologic, caracteristic malignității.

Desigur că interrelația vîrstă-cancer nu trebuie privită unilateral, ea fiind interferată și de alți parametri ca: structura genetică a individului, factori geografici și de mediu, sex etc.

Biologul și medicul își formulează numeroase întrebări asupra existenței corelației vîrstă-cancer:

— metabolismul vîrstelor tinere se opune instaurării metabolismului tumoral malign, cancerul fiind o boală întîlnită excepțional în copilărie și foarte frecventă la grupe de vîrste adulte și bătrîne?

* Din multiplele caractere ce se atribuie fenomenului viață, metabolismul este cel mai reprezentativ.

— există tipuri de cancere caracteristice anumitor grupe de vîrstă și se constată vreo legătură cauzală cu parametrii metabolici caracteristici a-celor vîrste?

— procesul de malformație congenitală și de senescență variază oncogeneza?

— vîrsta influențează evoluția cancerului, în sensul că tinerețea ar impune o malignitate crescută cancerului declarat (instalat)?

— cunoscînd aceste date referitoare la interrelația vîrstă-cancer, putem îmbunătăți profilaxia și diagnosticul precoce al cancerului?

Vom prezenta datele științifice acumulate privitoare la interrelația vîrstă-cancer.

Pentru demonstrarea acestor corelații, cercetătorii interesați în problemă au folosit metoda statistică, metoda experimentală și observația clinică.

Metoda statistică (frecvența cancerului pe vîrste) furnizează cel mai vast material, dar totodată și cel mai discutabil și contestat.

În foarte multe localizări ale cancerului (cancer gastric, pulmonar, reticulopatii maligne etc.), indicele de vindecare fiind foarte redus, cifra morbidității se suprapune cifrei mortalității. Pentru alte localizări, vindecabile, ale cancerului (cancer cutanat, al buzei și al colului uterin etc.) cifra morbidității este mult mai mare decît cifra mortalității.

În general, există statistici asupra mortalității prin cancer și lipsesc statistici exacte asupra morbidității prin cancer.

Se admite că statisticile privind mortalitatea prin cancer sînt mai exacte decît statisticile referitoare la morbiditate, dat fiind că graficele de mortalitate se bazează pe diagnosticul înscris pe certificatul de deces (act medico-legal). Dar chiar în cele mai dezvoltate țări, cauza de moarte nu este totdeauna verificată necroptic, existînd astfel mult arbitrar în fixarea diagnosticului.

Willis (1967), autor de prestigiu dintr-o țară avansată (Anglia), unde necropsia se practică pe scară largă, făcînd o anchetă în această direcție, ajunge la concluzia că „desigur, diagnosticele greșite sînt mai numeroase decît cele corecte“.

La aceeași concluzie ajunge și Wells (Willis, 1967), care afirmă: „cu metodele actuale de înregistrare a morții nu putem ști și nu putem calcula cît sînt de greșite statisticile. Sîntem siguri că există o anumită eroare; ea este probabil mare, dar nimeni nu cunoaște cît este de mare“.

De asemenea, este foarte greu de stabilit vîrsta la care a apărut tumoarea, știut fiind că există tipuri de cancere cu evoluție extrem de încheată, care au o perioadă inaparentă clinic foarte lungă, care poate să țină pînă la 10—30 ani (cancerul intraepitelial al colului uterin poate evolua total asimptomatic-preclinic pînă la 10 ani, iar unele cancere de prostată abia după 15—30 ani de evoluție lentă pot să devină aparente clinice).

Greenwood (Willis, 1967) studiind durata în timp a tumorilor ne-tratate, ajunge la următoarele date (în medie): cancerul de sîn ar avea o evoluție (de la apariția clinică la exitus) de 38,3 luni; cancerul de rect 26,7 luni; cancerul colului uterin 20,9 luni; cancerul gastric 16,8 luni, cancerul cavității bucale 16,5 luni; cancerul de esofag 12 luni.

Sînt foarte multe excepții care arată că datele acestei statistici nu trebuie interpretate rigid. Personal am văzut cancer mamar (skirus) pe

care femeia îl purta netratat (în condiții de activitate socială) de 5 ani (60 de luni), după cum am văzut cancere ale sînului cu evoluție foarte rapidă și exitus în câteva luni; sau un caz care a debutat cu unic simptom adenopatia axilară (verificată biopsic), tumoarea devenind palpabilă în sînul ipsilateral abia după 6 ani (72 de luni) de la extirparea ganglionilor. Iată deci, în cadrul aceleiași localizări și aceleiași vîrste (43—46 ani) cancere cu debut și evoluție în timp foarte diferite.

Cu aceste rezerve asupra statisticii medicale în general, în lipsa unor date rigurose exacte, vom folosi totuși cifrele statistice publicate în literatură, deducînd din analiza lor interrelația vîrstă-tumoare.

28.1.

Incidența cancerului în funcție de vîrstă

D. C. Georgescu (1966), cercetător cu autoritate incontestabilă în studiul epidemiologiei cancerului, făcînd o analiză a literaturii mondiale, investigînd totodată și situația din țara noastră, subliniază părerea, cvasiunanimă că „incidența cancerului apare ca fiind în funcție de vîrstă, în sensul că intensitatea fenomenului crește în raport direct cu aceasta din urmă, atunci cînd se calculează proporțiile specifice pe grupe de vîrstă pentru ansamblul localizărilor atît în cazul morbidității, cît și în cel al mortalității”.

Acest fenomen rezultă și din statistica mult mai exactă a lui R. A. Willis (1967), care distribuind pe vîrste 1 060 de cazuri de cancere verificate personal necroptic, ajunge la datele expuse în tabelul 28.1.

TABELUL 28.1

DISTRIBUTIA PE VÎRSTE ȘI INCIDENȚA PE VÎRSTE
A 1 060 DE CANCERE AUTOPSIAȚE DE WILLIS (1967)

Decenii	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A. Număr cazuri din fiecare deceniu	0	1	12	32	130	253	345	239	48	—
B. Procent de cazuri/deceniu	0	0	1	3	12	24	33	22,5	4,5	—
C. Procent de populație totală în fiecare deceniu	14	16	16	16	13	11	9	4	1	—
D. Raportul B : C	0	0	0,06	0,18	1	2,2	3,7	5,6	4,5	—

Autorul întocmește tabelul ținînd seama că simpla distribuție pe vîrste ar induce în eroare asupra frecvenței cancerului într-o anumită grupă de vîrstă, deoarece nu ține seama de întreaga populație din care provin cazurile de cancer. Pentru a evidenția predispoziția diferitelor grupe de vîrstă la cancer, trebuie comparate procentele constatate pe diferite grupe de vîrstă (B), cu procentele grupelor de vîrstă corespunzătoare în cadrul populației generale (C), rezultînd incidența reală a cancerului pe grupe de vîrstă (D).

În concluzie, incidența cancerului crește în raport direct cu vîrsta.

Să analizăm în detaliu ce se întîmplă cu mortalitatea prin cancer în copilărie (1—14 ani) pubertate (15—19 ani), și adolescență, vîrste extrem de complexe ca modificări imunologice, endocrine și metabolice, legate de procesul de creștere.

În tabelul 28.II (Georgescu, 1966) este ilustrată situația acestor vîrste în raport cu mortalitatea prin cancer. Analizînd acest tabel, care se referă la repartitia deceselor prin tumori maligne pe grupe de vîrstă față de totalul deceselor prin tumori maligne, rezultă că între 0 și 19 ani, sucombă prin tumori un număr infim de cazuri (sub 2%) din totalul deceselor prin tumori, imensa majoritate a deceselor prin tumori (peste 98%) aparținînd adultului trecut de 20 de ani: țara noastră se încadrează în aceeași situație.

TABELUL 28.II

REPARTIȚIA DECESELOR PRIN TUMORI MALIGNE PE GRUPE DE VÎRSTĂ ȘI SEX ÎN DIFERITE ȚĂRI (1959) (PROCENTE FAȚĂ DE TOTALUL DECESELOR PRIN TUMORI MALIGNE DAT DE FIECARE SEX)

Țara	0—14 ani			15—19 ani			20 ani și peste		
	Total	Masc.	Fem.	Total	Masc.	Fem.	Total	Masc.	Fem.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
R.F.G.	0,77	0,84	0,70	Sub 1,00%			98,97	98,84	98,97
Austria	0,80	0,74	0,83	0,27	0,25	0,28	98,93	98,97	98,88
Anglia și Țara Galilor	0,80	0,80	0,80	0,23	0,25	0,21	98,97	98,95	98,98
Belgia	0,83	0,87	0,79	0,28	0,36	0,20	98,88	98,77	99,01
Franța	0,97	1,05	0,87	0,23	0,27	0,19	98,80	98,68	98,93
Ungaria	1,03	1,20	0,86	1,0—1,99%			98,37	98,37	98,81
Danemarca	1,05	1,13	1,97	0,35	0,51	0,19	98,60	98,36	98,84
Cehoslovacia	1,23	1,46	0,96	0,39	0,50	0,27	98,37	98,04	98,77
Japonia	1,47	1,57	1,36	0,58	0,62	0,54	97,94	97,81	98,10
România (1960)	1,64	1,96	1,33	0,49	0,57	0,42	97,87	97,47	98,25
S.U.A. populație albă	1,70	1,81	1,56	0,36	0,42	0,28	97,95	97,77	98,16
S.U.A. restul populației	1,73	1,76	1,69	0,53	0,53	0,53	97,74	97,71	97,78
Australia	1,83	1,96	1,67	0,32	0,41	0,21	97,86	97,63	98,12

La o primă impresie ar rezulta că la copii (0—14 ani) importanța cancerului este neînsemnată și astfel, problema tumorilor la copii ar putea fi practic neglijată (ceea ce vom vedea că este de fapt o concluzie falsă).

Analizînd care este importanța relativă (în procente) a principalelor cauze de deces în cadrul vîrstei copilăriei (0—14 ani) pe baza datelor statistice publicate de Organizația Mondială a Sănătății (1962) pe ansamblul a 14 țări (11 din Europa, 2 din America de Nord și Australia), D. C.

Georgescu (1966) ajunge la concluzia că proporția care revine tumorilor la copii (0—14 ani) este importantă (circa 8%), fiind întrecută doar de mortalitatea prin afecțiuni cardiovasculare (15,06%) și de tuberculoză (8,77%) și că deci problema tumorilor la copii nu poate fi neglijată.

Ordinea de importanță a primelor 4 cauze de deces a fost în cadrul fiecărei grupe de vîrstă următoarea:

1—4 ani: 1) accidentele; 2) pneumoniile și gripa; 3) malformațiile congenitale; 4) tumorile maligne și apoi urmează toate celelalte cauze de mortalitate.

5—14 ani: 1) accidentele; 2) tumorile maligne; 3) malformațiile congenitale; 4) pneumonia și gripa.

15—44 ani: 1) accidentele; 2) tumorile maligne; 3) bolile cardiace; 4) sinuciderile.

45—64 ani: 1) tumorile maligne; 2) bolile cardiace; 3) leziunile vasculare cerebrale; 4) pneumoniile și gripa.

65 ani și peste: 1) bolile cardiace; 2) leziunile vasculare cerebrale; 3) tumorile maligne; 4) pneumoniile și gripa.

Dacă aceasta era situația în studiul lui D. C. Georgescu întocmit în 1966, situația s-a modificat în S.U.A. în ultimii 10—15 ani.

Un studiu recent al lui Silverberg (1981), care prelucrează statisticile sanitare din 1977 ale Statelor Unite, arată că, exceptînd vîrstele cuprinse între 15 și 34 ani (la subiecții de sex masculin) unde mortalitatea prin cancer ocupă locul 4 (după mortalitatea prin accidente, sinucidere și crime), la toate grupele de vîrstă (1—14 ani; 15—34 ani la femei; 35—54 ani; 55—74 ani și peste 75 ani) și la ambele sexe mortalitatea prin cancer reprezintă a doua cauză de deces.

La femeile din grupa 35—54 ani cancerul este prima cauză de deces cu un număr de 27 972 de cazuri, aproape la fel de mare ca și suma următoarelor 9 cauze de deces (33 576 cazuri).

Din statisticile cercetate se poate observa că la toate grupele de vîrstă există cancer, boala deținînd un loc relativ important printre cauzele de mortalitate la copii și adolescenți, devenind o cauză de prim ordin a mortalității adultului.

28.2.

Predispoziția unor vîrste pentru anumite tipuri de cancer

Studiile întreprinse de Georgescu (1966) în această direcție, pe baza statisticilor internaționale publicate de O.M.S. și a statisticilor din țara noastră, scot în evidență un fenomen deosebit de interesant și anume, că la copii și adolescenți predomină neoplaziile maligne de origine mezenchimală, în opoziție cu adulții, la care predomină net tumorile maligne epiteliale. Analizînd toate tumorile înregistrate la copii (0—14 ani) în Bulgaria între 1960 și 1964 (1 586 de cazuri), Bratanov și colab. (1964) constată că leucozele au fost întîlnite în 48,7%, boala Hodgkin și limfosarcoamele în 18,9% (deci aproape 70% din cazuri), tumorile neurale fiind întîlnite doar în 10,9%. Restul procentelor se împart între tumorile renale, mediastinale, abdominale, oculare ș.a.

Fig. 28.1 arată sugestiv predispoziția diferită a tinerilor și adulților pentru tipuri histopatologice diferite ale cancerelor, arătând totodată cum fenomenul este influențat progresiv de vîrstă.

Leucemiile, limfoamele, sarcoamele, tumorile embrionare și tumorile țesutului nervos sînt mult mai frecvent întîlnite la copii decît la adulți; în schimb, adenocarcinoamele și epitelioamele sînt întîlnite predominant la adulți.

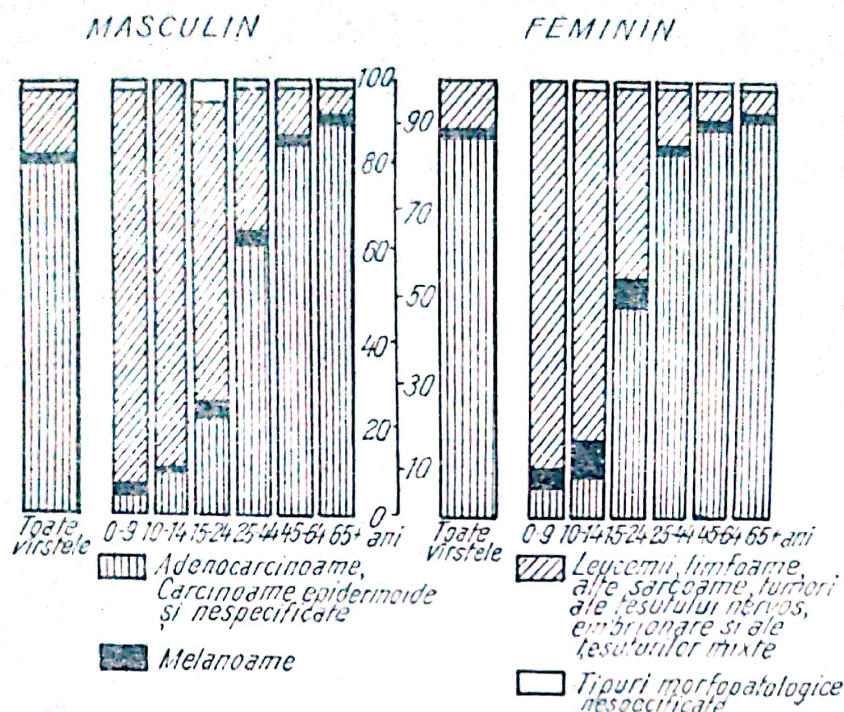


Fig. 28.1. — Importanța anumitor tipuri morfo-patologice în diferite grupe de vîrstă la bolnavii cu neoplazii maligne nou-diagnosticați în 1958 în S.U.A. (D. C. Georgescu, 1966).

O problemă interesantă, pe care doar o enunțăm, fără să o tratăm pe larg, este și frecvența pe grupe de vîrstă a diverselor localizări ale cancerului, fiecare localizare avîndu-și vîrsta caracteristică de incidență maximală.

Fig. 28.2 și 28.3 ilustrează acest aspect semnalat și de I. Negru (1963), într-un studiu statistic efectuat pe 20 020 de bolnavi canceroși, proveniți din toate localitățile țării, și care s-au adresat Institutului Oncologic București între anii 1951 și 1960.

Tumorile cele mai frecvente ale copilului sînt totodată și cele mai maligne, vindecarea fiind de cele mai multe ori iluzorie. Recent, Silverberg (1981) subliniază faptul că la copii (1—14 ani) primul loc la mortalitatea prin tumori maligne este ocupat de leucemii și tumorile sistemului nervos central. Pentru adulții între 35 și 54 ani și 55 și 74 ani la bărbați primele două locuri ale mortalității prin cancer sînt ocupate de tumorile bronho-pulmonare și cancerul colo-rectale. La bărbații bătrîni (peste 75 de ani), primele două locuri ale mortalității prin cancer sînt ocupate de cancerul bronho-pulmonar și cancerul prostatic.

Pentru femei, Silverberg (1981) menționează că statistica S.U.A. pe anul 1977 indică următoarele:

La vîrsta de 1—14 ani, primele două locuri la mortalitatea prin cancer sînt ocupate de leucemii și tumori cerebrale.

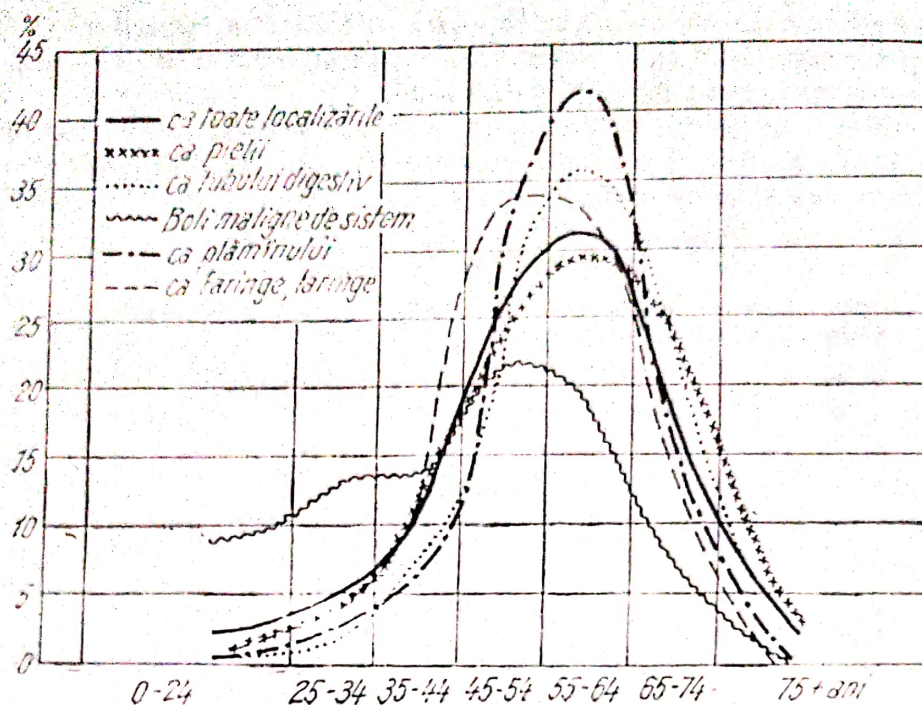


Fig. 28.2: — Curbele de distribuție procentuală pe grupe de vîrstă ale cancerului la bărbați; cancere în general și în unele localizări principale (I. Negru, ș.a., 1963).

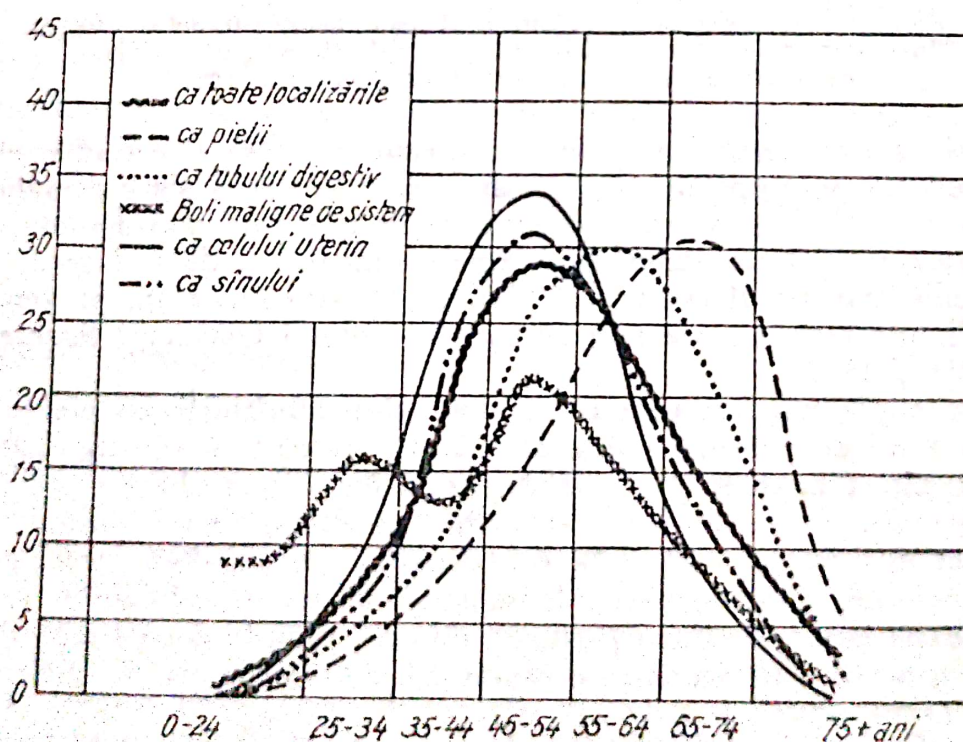


Fig. 28.3. — Curbele de distribuție procentuală pe grupe de vîrstă a cancerului la femei — cancere în general și în unele din principalele localizări (I. Negru, ș.a., 1963).

Între 15 și 34 ani, primele două locuri la mortalitatea prin cancer sînt ocupate de cancerul mamar și leucemii.

Între 35 și 54 ani și 55 și 74 ani, la rubrica mortalitatea prin tumori predomină cancerul mamar și cancerul bronho-pulmonar, iar peste 75 de ani primele trei locuri la mortalitatea prin tumori sînt ocupate de cancerul colo-rec-tal, mamar și bronho-pulmonar.

Din datele statistice prezentate, rezultă cîteva concluzii:

— În general, cu cît înaintăm în vîrstă, cu atît incidența cancerului este mai crescută (fig. 28.4 și 28.5).

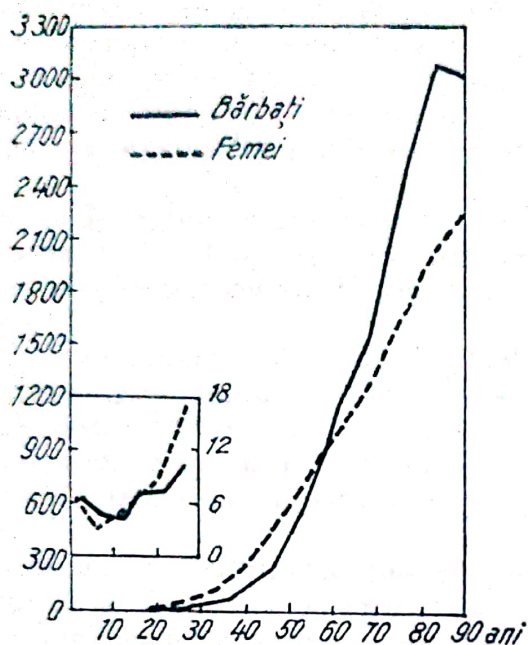


Fig. 28.4. — Frevența anuală a cazurilor nou-inregistrate de bolnavi canceroși în 10 mari orașe din SUA (1947) repartizate pe grupe de vîrste (din: P. Denoix, după: H. P. Dan, 1962).

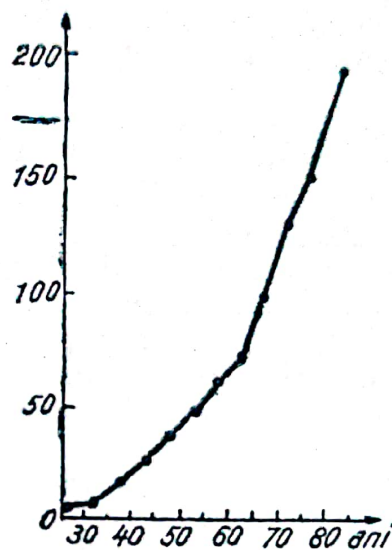


Fig. 28.5. — Curba de „frecvență reală” a cancerului calculată de Clemmensen pe 1 000 000 de locuitori din Copenhaga (din D. Postelnicu, s.a.; 1969; după: Oberling și Garneau).

— Fiecare organ are o curbă oarecum caracteristică de cancerizare, vîr-stele de maximă incidență diferind de la organ la organ (vezi fig. 27.2 și 27.3).

— La adulți și bătrîni crește progresiv incidența tumorilor maligne epiteliale.

— La copii și adolescenți predomină incidența tumorilor maligne de ori-gine mezenchimală (leucemii și alte reticulopatii maligne, osteo-sarcoame, fi-bro-sarcoame), tumorile de origine embrionară și anumite tumori nervoase (vezi fig. 27.1).

Aceste concluzii necesită explicații și interpretări.

28.3.

Relația dintre îmbătrînire și cancer

Îmbătrînirea celulară duce oare inevitabil la cancerizare? Este bătrînețea „o stare precanceroasă”, așa cum afirmă Sirtori (citat de Postelnicu, 1969)?

Nu sîntem de această părere, pentru simplul motiv că există foarte mulți bătrîni cu vîrste înaintate, care nu fac cancer și că într-un organism îmbătrînit,

în care toate celulele sînt îmbătrînite, cancerizarea (dacă apare) apare la o singură celulă sau la un grup limitat de celule (monofocal).

Nu avem intenția să prezentăm pe larg toate discuțiile purtate asupra acestei interrelații (îmbătrînire-cancerizare), cititorul găsindu-le pe larg dezbătute de Postelnicu (1969). Vom expune succint concluziile noastre.

Se pare că transformarea unei celule normale în celulă canceroasă are la bază apariția unei mutații sau a unor succesiuni de mutații (Boyd, 1963; Burnet, 1967).

Aceste mutații apar sub acțiunea mutagenă a agenților cancerigeni din mediul ambiant (substanțe chimice cancerigene, radiații ionizante, virusuri oncogene). Acești factori cancerigeni își dezvoltă cu atît mai ușor acțiunea mutagen-cancerigenă, cu cît în structura genetică a individului există mai multe alterații cromozomiale și gene defectuoase moștenite, gene ale cancer-susceptibilității (Court-Brown, 1962), mult discutata ereditate și predispoziție la cancerizare.

Faptul că un organ își multiplică intens celulele, regenerînd, nu-l scutește de acțiunea mutagenă a agenților cancerigeni, deoarece modificările genetice minime, imprimate unei generații celulare, se transmit, însumîndu-se și la generațiile celulare următoare.

Potrivit unui calcul al lui Burnet (1967), din celulele somatice ce se multiplică zilnic, circa un milion de celule nou-născute sînt celule mutante. Majoritatea celulelor mutante nu pot supraviețui și mor; supraviețuiesc numai celulele cu mutații biocompatibile, unele din ele putînd lua și calea cancerizării, fapt care le imprimă o componentă imunologică diferită de restul celulelor normale.

În condiții normale, aceste celule mutante sînt sesizate imunologic de organism și îndepărtate înainte de a se constitui focarul canceros viabil în timp. Cancerul s-ar produce, în lumina acestei concepții, numai în cazul cînd controlul imunologic al organismului este deficitar (Burnet, 1967; Prehn, 1963).

La subiecții cu un aparat imunologic competent, aceste celule mutante, cu „alterații cromozomiale” sau cu „gene defectuoase” candidate la cancerizare, sînt jugulate în „fașă”, datorită unei „funcții de supraveghere” de natură imunologică (Burnet, 1967).

Se pare că prin îmbătrînire, capacitatea unor celule involuate de a suferi mutații este mult mai crescută, iar aparatul imunologic al bătrînilor devine mai inefficient (Postelnicu, 1966), factori ce creează condiții de favorizare a unei eventuale mutații, care duce celula la cancerizare, ca și persistența celulelor maligne, odată apărute.

În concluzie, îmbătrînirea nu duce inevitabil la cancerizare, ci doar creează condiții favorizante pentru declanșarea unui cancer, sub acțiunea factorilor cancerigeni-mutageni ambianți.

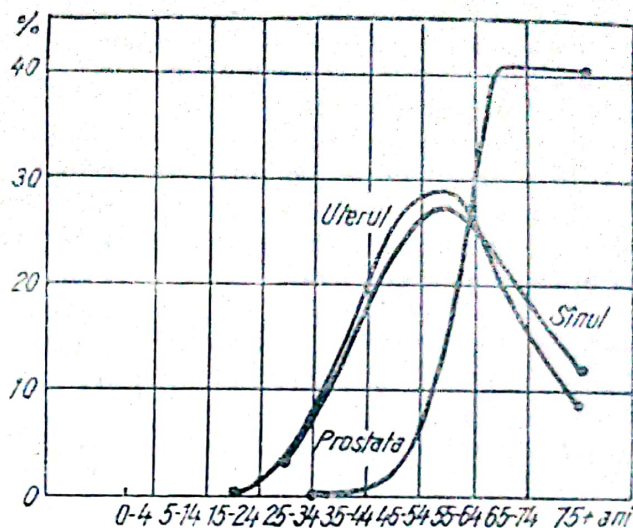
28.4.

Influența vîrstei asupra curbei specifice de cancerizare a fiecărui organ

De ce fiecare organ are vîrste caracteristice de maximă incidență a cancerului și nu asistăm, pentru toate organele, la legea generală (dedusă statistic) potrivit căreia pe măsură ce subiectul îmbătrînește, crește și incidența cancerului unui anumit organ?

De exemplu, fig. 28.6 ne dovedește că uterul și sânul au vârsta de maximă incidență a cancerului între 45 și 64 de ani, pe când prostata prezintă maximă incidență mult mai târziu, între 65 și 80 de ani.

Fig. 28.6. — Distribuția pe grupe de vîrstă și sex a deceselor prin neoplaziile maligne ale uterului, sînului și prostatei în România, 1967 (D. C. Georgescu, 1969).



S-ar putea răspunde la această întrebare, asociindu-ne la punctul de vedere exprimat de Postelnicu (1969), că vîrsta de „îmbătrînire“ (involuție) a diverselor organe este foarte diferită față de vîrsta de îmbătrînire a organismului întreg. Uterul, ovarul și glanda mamară intră în senescență în jurul vîrstei menopauzei, în timp ce organismul întreg nu prezintă fenomene similare și nu este deloc îmbătrînit. Timusul involuează (îmbătrînește) aproape total între 18 și 25 de ani, în timp ce restul organismului este în plină tinerețe (perioada de îmbătrînire — involuția timusului — coincide cu incidența maximală a tumorilor timice).

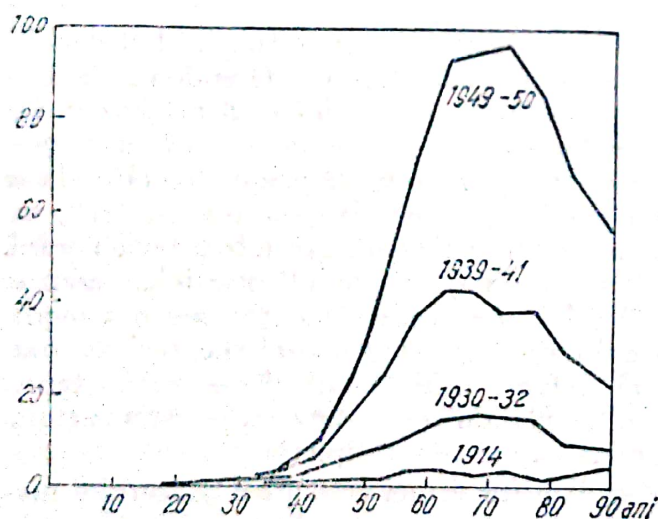


Fig. 28.7. — Frecvența anuală a mortalității prin cancer bronho-pulmonar în USA (calculate la 100 000 locuitori și pe grupe de vîrstă) (P. Denoix, 1962; după: A. F. Dorn).

Plămînul, de asemenea, îmbătrînește în plină perioadă de maturitate, mai ales în condițiile actuale de mediu poluat (fumat excesiv, poluarea atmosferei orașelor, viroze pneumotrope etc.). Influența mediului ambiant, prin agravarea de la an la an a condițiilor poluării, este evidentă asupra cancerizării plămînului, fapt ce rezultă și din fig. 28.7.

Epiteliul tubului digestiv, grație posibilităților lui de regenerare rapidă, îmbătrânește foarte târziu, paralel cu îmbătrânirea organismului. Așa s-ar putea parțial explica, de ce cancerule digestive (esofag, stomac, colon, rect) au o incidență mai mare la grupele de vîrstă mai înaintate.

De notat că la toate aceste organe (uter, ovar, sîn, prostată, timus, plămîn ori aparatul digestiv) incidența maximă a tumorilor maligne coincide cu perioada de îmbătrînire biologică a fiecărui organ.

Pentru corelația existentă între involuție și cancerizare sînt ilustrative cercetările experimentale ale lui C. I. Parhon și I. Petrea (din Postelnicu, 1969), privind cancerul testicular provocat prin metil-colantren, unde înainte de apariția cancerului asistăm totdeauna la o involuție testiculară, comparabilă cu cea observată la bătrînețe.

Ar fi foarte interesant de întocmit un studiu care să analizeze incidența tumorilor maligne ale organelor, în funcție de gradul lor individual de îmbătrînire și nu judecînd după îmbătrînirea globală a întregului organism.

Vom ilustra această idee cu cîteva date privind cancerul de sîn și prostată (lipsa de spațiu nu ne permite extinderea studiului și la alte organe).

28.5.

Vîrsta și cele două forme epidemiologice ale cancerului mamar

Cancerizarea sînelui nu poate fi înțeleasă corect dacă este privită numai prin prisma vîrstei, fără a lua în considerație echilibrul și perturbările endocrine, ca și alte elemente ale fiziologiei sînelui (în special lactația). Glanda mamară este un receptor hormonal important al estrogenilor ovarieni și suprarenali, ca și al hormonilor hipofizari somatotrop și mamotrop. De asemenea, tiroida și pancreasul (prin hormonul insulinic) influențează fiziologia glandei mamare, mai ales în faza de lactație.

După pubertate, glanda mamară suferă ciclic, lunar, influențe hormonale, similare pînă la un punct cu influențele hormonale suferite de endometru. Dovada clinică sînt puseurile congestive ale sînelui legate de ciclul menstrual, iar histologic s-a constatat hiperplazia endometrului. Diferența este că dacă mucoasa uterină hiperplaziată sub influențe hormonale se desprinde, eliminîndu-se o dată cu fluxul menstrual, epiteliul mamar hiperplaziat „rămîne pe loc”, involuînd ciclic și hiperplaziindu-se ciclic tot timpul vieții genitale a femeii (pînă la menopauză și chiar o perioadă după aceasta). Epiteliul glandular mamar însușează aceste incitații lunare ciclice la hiperplazie, incitații care pot modifica în timp structura genetică a acestor celule, jucînd un rol (neprecizat total încă) și în geneza cancerului sînelui. Numai prin lactație își elimină glanda mamară structurile epiteliale ale acinilor glandulari, o dată cu secreția lactată, sînul regenerîndu-se după fiecare sarcină cu lactația completă.

Este una din explicațiile care sînt date frecvenței crescute a cancerului mamar la femeile care nu au alăptat, în comparație cu incidența scăzută a cancerului mamar la cele care au alăptat complet.

Pe lîngă aceste cancerule de natură hormonală, mai apar și cancerule legate de involuția sînelui, pe terenul distrofic, favorizat de vîrsta înaintată.

Asupra acestor două forme epidemiologice ale cancerului de sîn, cu mecanisme de cancerizare diferită, insistăm mai departe.

Numeroși autori (Pirquet, 1930; Denoix, 1950; Severi, 1962; Clemmesen, 1964; Doll și colab., 1972) atrag atenția asupra distribuției bimodale a cazurilor suferind de cancer mamar în țările occidentale.

F. de Waard (1964) evidențiază foarte clar acest fenomen (studiu la 10 047 de bolnave de cancer mamar înregistrate între 1954 și 1960 în registrul de cancer al Centrului Anticanceros din Amsterdam), primul vîrf al curbei (A) interesînd bolnave între 42 și 46 de ani, iar al doilea vîrf (B) interesînd bolnave între 63 și 70 de ani (fig. 28.8).

F. de Waard (1964) consideră că se poate vorbi de existența a două tipuri de cancer mamar [la aceeași concluzie ajung și Berndt (1969) și Hakama (1970)];

— *Tipul premenopauzic* (vîrfurile A al curbei), în care un rol important în geneză îl joacă estrogenii de origine ovariană; vîrsta celor mai multe bolnave fiind între 42 și 46 de ani (sau mai tinere);

— *Tipul postmenopauzic* (vîrfurile B al curbei), în care un rol important în geneză îl joacă estrogenii de origine corticosuprarenală (cei de origine ovariană reducîndu-se progresiv pînă la dispariție la aceste vîrste înaintate). Bolnavele din această grupă au vîrsta peste 62 de ani.

F. de Waard (1964) își bazează argumentația pe faptul că, în general, cancerul menopauzic și postmenopauzic apare la femei grase și hipertensive, fenomene caracteristice hiperproducției suprarenale de estrogeni.

Pornind de la faptul că în țările orientale incidența cancerului mamar scade după menopauză, fără să mai înregistreze o nouă creștere în postmenopauza avansată și că, în general, în aceste țări incidența cancerului mamar este de 10 ori mai redusă decît în țările vestice (Doll, 1972; Wynder, 1980), se consideră că motivul acestor diferențe este regimul alimentar. De exemplu, femeile din SUA consumă de trei ori mai multe lipide decît japonezele. Efectele surplusului alimentar de lipide la femeile în postmenopauză determină pe de o parte o creștere a transformării androstendinei în estronă în țesutul adipos excesiv și, pe de altă parte, creșterea nivelului nocturn de prolactină. În consecință, sub acțiunea intempestivă a estronei și prolactinei asupra unui sîn „programat” ontogenetic la hipotrofie, apare o recrudescență în apariția sau evoluția unor focare tumorale.

Denoix (1962) propune o altă interpretare existenței acestei curbe bimodale. Studiind curba de repartiție a cancerelor de sîn în funcție de vîrsta bolnavelor la primul simptom, constată (fig. 28.9) existența a două grupe distincte de cancere mamare: o grupă de bolnave (Tx) cu menstruație prezentă încă, situație posibilă în jurul vîrstei de 38—44 de ani (premenopauză) și o a doua grupă (Ty) ce se situează în jurul vîrstei de 60—67 de ani, în postmenopauză tardivă.

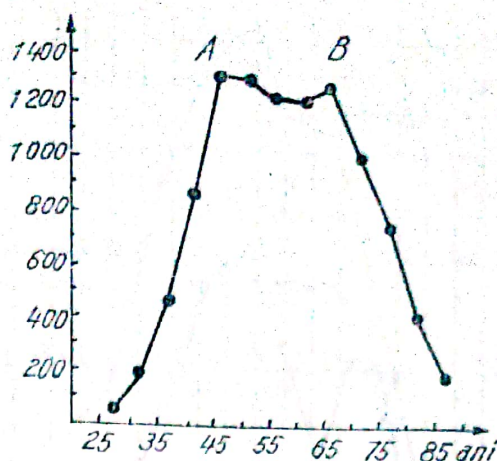


Fig. 28.8. — Distribuția pe grupe de vîrste a cancerului mamar (10 047 cazuri). Se observă distribuția bimodală cu vîrfurile A (bolnave la vîrsta de 42—46 de ani) și al II-lea vîrf B (bolnave la vîrsta de 63—70 de ani) (F. de Waard, ș.a., 1964).

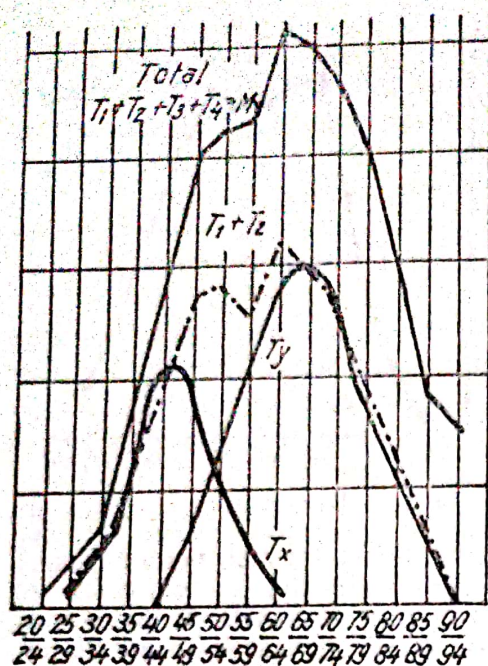


Fig. 28.9. — Distribuția pe grupe de vîrste a cancerului mamar relevă două tipuri epidemiologice: Tx — tipul premenopauzic (endocrin); Ty — tipul postmenopauzic (distrofic senil). (F. Denoix, 1962).

Prima grupă (Tx) de bolnave, majoritatea fiind în premenopauză, au tumori de cele mai multe ori „estrogeno-dependente”, ce beneficiază de medicație antagonistă testosteronică sau de castrare, administrarea de estrogeni agravînd evident evoluția cancerului; a doua grupă (Ty) fiind formată de bolnave în postmenopauză tardivă, cu tumori „estrogen-independente”, care nu mai beneficiază de castrare, la care medicația antagonist-estrogenică (testosteronul) rămîne ineficăce și care, în schimb, beneficiază în mod paradoxal și spectacular de medicația estrogenică.

Denoix atrage atenția că simplul fenomen exterior al încetării menstruației nu poate fi considerat criteriul esențial al stării hormonale la aceste grupe de vîrstă și că este necesar să se aprecieze activitatea hormonală prin teste biochimice mai exacte.

În prezent, se pare că presupunerile lui Denoix asupra originii curbei bimodale nu mai au suportul teoretic formulat anterior, deși concluziile practice terapeutice sînt și astăzi valabile.

Dacă asupra cancerului mamar de tip premenopauzic sîntem total de acord cu De Waard și Wynder în ceea ce privește rolul estrogenilor ovarieni în geneza acestui tip de cancer, ne deosebim ca interpretare în privința apariției cancerului mamar postmenopauzic. În această situație acordăm importanță de ordinul al doilea dereglărilor cortico-suprarenalei, trecînd pe primul plan distrofia care se instalează în postmenopauza tardivă (65 ani) atît în parenchimul epitelial al acinilor glandulari, cît și distrofia care interesează țesutul conjunctiv al sînului.

Faptul necontestat de observația clinică, și anume că administrarea de estrogeni influențează favorabil cancerule mamare de tip postmenopauzic, asistîndu-se uneori spectacular la topirea tumorilor și dispariția metaștazelor, vine în sprijinul concepției noastre, estrogenii acționînd prin redresarea trofică a sînului (țesut glandular epitelial și stroma conjunctivă).

În concluzie, apariția cancerului de sîn nu poate fi legată exclusiv numai de fenomenul „îmbătrînire” a organului, existînd forme de cancer în care excitantul hormonal, exercitat ciclic și permanent timp de 25—30 de ani, joacă un rol esențial în declanșarea procesului malign.

28.6.

Vîrsta și cancerul de prostată

Fiziologia prostatei umane a putut fi descifrată grație experiențelor făcute pe prostata de cîine (Denoix, 1962). Efectul trofic stimulatîv al testosteronului

* În 1962 nu se cunoștea încă posibilitatea de a preciza prin determinarea receptorilor de estrogeni fenomenul de hormono-dependență.

apare evident, deoarece după castrare (orhidectomie bilaterală) asistăm la suprimarea secreției prostatice și la atrofia acestei glande. Aceleași fenomene se obțin la ciine și printr-o medicație antiandrogenică (administrare continuă și masivă de estrogeni). În cazul când la animalele castrate, cu prostata atrofiată, administrăm androgeni, celulele epiteliale prostatice încep să se regenereze, apare o metaplazie a lor și reapare secreția prostatică, glanda hipertrofiindu-se.

Cancerul de prostată (chiar metastatic) beneficiază substanțial de administrarea masivă a estrogenilor și de castrare (Huggins, 1941).

Fig. 25.6. arată în mod evident că mortalitatea prin cancer de prostată este neînsemnată până la 55 de ani, crescând brusc și alarmant de frecvent după 65 de ani (tabelul 28.III).

TABELUL 28.III
PROPORTIA MORBIDITĂȚII PRIN CANCER
PROSTATIC LA 1/1000 LOCUITORI (BĂRBAȚI)
ÎNREGISTRATĂ ÎN 1964 ÎN SUECIA
ȘI REPARTIZATĂ PE GRUPE DE VÂRSTĂ.
ÎNTOCMIT PE BAZA DATELOR PUBLICATE
DE OMS (20) (TOTAL 2 341 CAZURI DE CANCERE
PROSTATICE ÎNREGISTRATE)

Vârsta	Morbiditate la 1/1 000 locuitori (bărbați)
0 ani	—
1—4 ani	—
5—14 ani	—
15—24 ani	—
23—34 ani	0,2
35—44 ani	0,2
45—54 ani	9,7
55—64 ani	63,7
65—74 ani	315,2
75+	741,1

În unele țări (în special în țările nordice), cancerul de prostată a ajuns să fie prima cauză de morbiditate prin tumori maligne*. De exemplu, în Suedia (1964) la un total de 24 775 de bolnavi canceroși (12 198 de bărbați și 12 577 de femei) cancerul de prostată ocupă locul întâi ca morbiditate (tabelul 28.IV).

Bineînțeles că au fost înregistrate numai cazurile de cancere prostatice care s-au manifestat clinic. Studii necroptice sugerează că acest tip de cancer ar fi întâlnit mult mai des (Evans, 1968, 11).

Examinarea histologică amănunțită a prostatelor arată o frecvență alarmantă a cancerelor prostatice nemanifeste clinic.

Rich (după Evans, 1968) a găsit prezența microfocarelor canceroase în prostată la 14% din 292 de bărbați trecuți de 50 de ani și morți de alte afecțiuni decât cancerul prostatic (inimă, accidente, infecții etc.).

* Și în cazul cancerului de prostată se constată aceeași creștere a frecvenței de la an la an. Boyd (1963) îl citează pe Taylor, care într-un manual consacrat bolilor genito-urinare publicat în 1900, făcea constatarea surprinzătoare, că deși foarte rare, carcinomul și sarcomul de prostată se întâlneau totuși câteodată în practică.

TABELUL 28.IV

**MORBIDITATEA CANCEROASĂ LA BĂRBAȚI ÎN SUECIA, PE LOCALIZĂRI,
ÎNȚOCMIT PE BAZA DATELOR PUBLICATE DE OMS (20)
(DIN TOTALUL DE 12 198 DE BĂRBAȚI CANCEROȘI ÎNREGISTRAȚI ÎN 1964)**

Localizarea cancerului	Nr. total de cazuri înregistrate	Proporție la 100 000 de locuitori
1. Prostată	2 341	61,2
2. Stomac	1 427	37,3
3. Bronhii-plămâni	1 115	29,2
4. Colon	992	24,1
5. Rect	640	16,7
6. Creier și alte părți ale S.N.	455	11,9

Moore a constatat focare canceroase la 25% din subiecții peste 40 de ani (autopsii), iar Baron le-a constatat într-o proporție și mai ridicată (46% la bărbații morți peste 50 de ani) (Evans, 1968).

Cifrele ridicate, ca și discrepanțele dintre ele, îl determină pe Evans (1968) să se îndoiască de criteriile histologice utilizate de acești autori, care susțin că aproape jumătate din populația trecută de 50 de ani prezintă cancer de prostată asimptomatic (așa cum susțin Baron și Angrist).

Calcululele lui Ashley arată că incidența cancerului prostatic crește în raport cu puterea a 3-a a vârstei (Evans).

Prin raționament absurd s-ar putea susține că orice bătrîn peste 90 de ani are aproape sigur un cancer prostatic (aparent sau inaparent clinic) sau îl va face cu siguranță dacă ar mai trăi cîteva decenii. Relația dintre vîrstă, statusul hormonal și cancerul prostatic este o realitate.

28.7.

La adulți predomină tumorile epiteliale, iar la tineri cele mezenchimale și embrionare

Cu toate că nu se cunoaște natura intimă a acestui fenomen interesant (vezi fig. 27.1), el ridică numeroase discuții.

La copii și adolescenți predomină:

a) neoplaziile maligne de origine mezenchimală.

— bolile maligne de sistem (leucemii acute și cronice, reticulo-sarcomul, limfo-sarcomul, limfo-granulomatoza malignă Hodgkin);

— fibro-sarcomul, osteo-sarcomul, angio-sarcomul și reticulo-sarcomul osos Ewing.

b) Tumori maligne de origine embrionară: teratoamele, tumorile Wilms, tumorile renale maligne mixte, carcinomatoase și sarcomatoase, hipernefrozul Grawitz, căruia i se atribuie încă o eventuală origine din incluzii suprarenale în rinichi, o gamă largă de tumori „mediastinale” și „retroperitoneale” cu o multitudine de aspecte morfo-patologice; nu trebuie uitat că mediastinul și retroperitoneul sînt regiuni în care există o mare interferență de țesuturi în embriogeneză.

c) Tumori ale sistemului nervos, din care anumite tipuri morfologice predomină impresionant la copii și adolescenți.

La adulți și bătrâni tumorile menționate diminuează ca frecvență, în schimb crește incidența tumorilor epiteliale (epitelioame, adenocarcinoame).

În capitolele anterioare stabilisem o legătură între procesul de senescență și procesul de cancerizare. Faptul contradictoriu în aparență, că și țesuturile tinere pot fi interesate de procesul malign, ar putea fi explicat parțial prin următoarele elemente:

— existența unor anomalii congenitale în structura organului (inclusiv embrionare, formațiuni teratoide, imaturizarea unor țesuturi) ar putea ajuta la înțelegerea malignizării, deoarece anomalia congenitală și distrofia sînt procese ce coexistă de regulă. Din practică se știe că distrofia are posibilități crescute de malignizare. De exemplu, Teter și Tarlovsky (1960) semnalează o incidență crescută a tumorilor ovariene la bolnavele cu disgenezii gonadice;

— existența unor anomalii în structura genetică a țesutului sau organului. Este cunoscută legătura ce există între trisomia cromozomilor 21 și mongolism (boala Down) (Ravina, 1968); mongolozii au de 20 de ori șansa mai mare să fie atinși de leucemie decît copiii normali (Ravina, 1968); (Stewart, 1969).

Shaffer (după Ravina, 1968) admite că prezența genelor defectuoase, în mare număr la copiii distrofici, predispune la o modificare mai promptă a materialului genetic sub influența factorilor cancerigeni (chimici, radiații ionizante, virusuri cancerigene și cocancerigene).

Cole și Nowel (1965) presupun că celulele alterate genetic ar fi sensibile chiar și la carcinogeneza prin agenți nespecifici (necancerigeni).

— În ceea ce privește neoplaziile derivate din sistemul reticulo-histiocitar (leucemiile, reticulo- și fibro-sarcoamele, boala Hodgkin), unde se discută posibilitatea unor infecții virale, nu trebuie să se piardă din vedere faptul că în copilărie și adolescență procesele imunitare sînt în curs de formare, la unii copii înregistrîndu-se chiar deficiențe imunologice izbitoare.

— Este imposibil să nu se facă o legătură între incidența crescută a tumorilor conjunctive în primele două decenii ale vieții și solicitările extrem de mari la care sînt supuse țesuturile derivate din mezenchim în perioada copilăriei și adolescenței, legate de procesul de creștere, solicitări cu mult mai mari decît cele cerute epitelilor.

Descărcările cele mai mari de hormoni somatotropi au loc tocmai în aceste perioade inițiale ale vieții și se știe rolul somatotropilor în oncogeneza experimentală. Probabil că acest echilibru hormonal influențează negativ (în sensul oncogenezei) numai celulele distrofice (sau heterotopice) cu o armătură deficitară, susceptibile de a suferi ușor mutații oncogene. A insista în domeniul ipotezelor este un fapt temerar și nefolositor pentru practician.

— În ceea ce privește tumorile sistemului nervos, studiile întreprinse de K. I. Zulch (1956) la 4 000 cazuri, reliefează unele aspecte care trebuie subliniate.

Făcînd o analiză a curbelor de frecvență repartizate pe decenii, Zulch observă că în jurul vârstei de 20 de ani unele curbe de repartiție, în cazul tumorii, încep să crească, iar pentru alte tumori curba frecvenței începe să scadă apreciabil (fig. 28.10 A și B).

Acest fapt subliniază importanța biologică a acestei „răspîntii a vieții” (Zulch, 1956), care reprezintă hotarul copilăriei și tinereții față de vîrsta adultă. În concepția lui Zulch și Borck, de la 0 la 20 de ani este perioada copilăriei și a tinereții; de la 21 la 45 de ani, mijlocul vieții, de la 46 la 65 de ani vîrsta involuției, iar peste 65 de ani vîrsta bătrîneții.

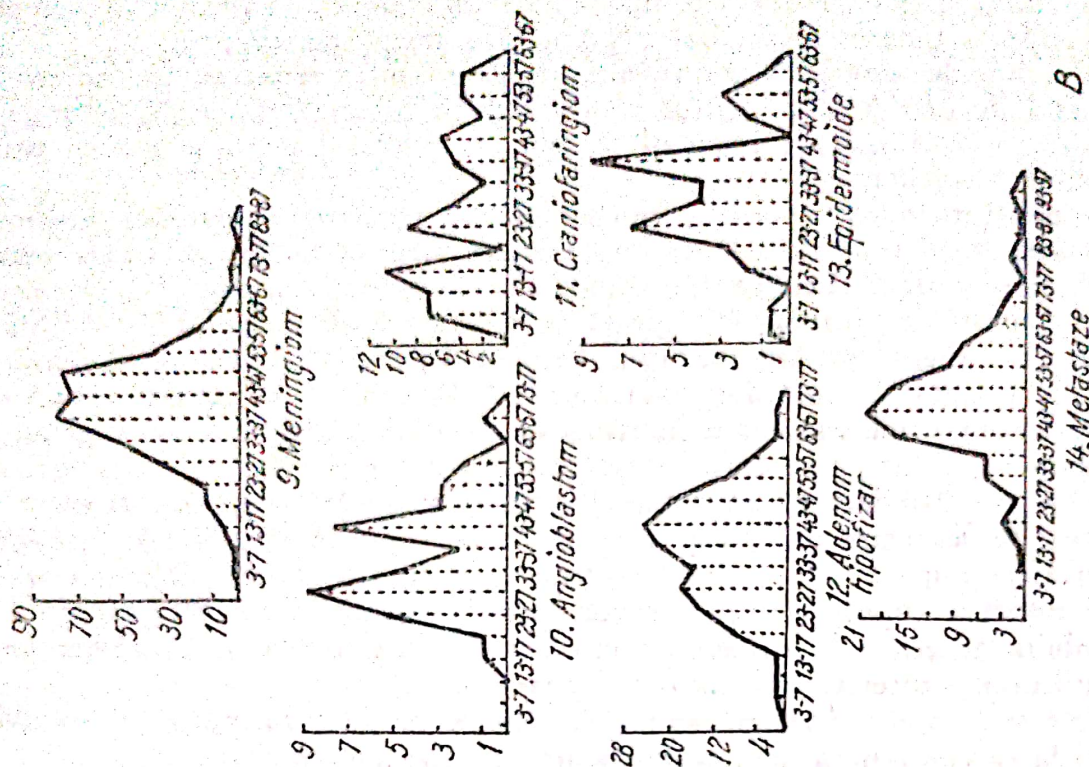
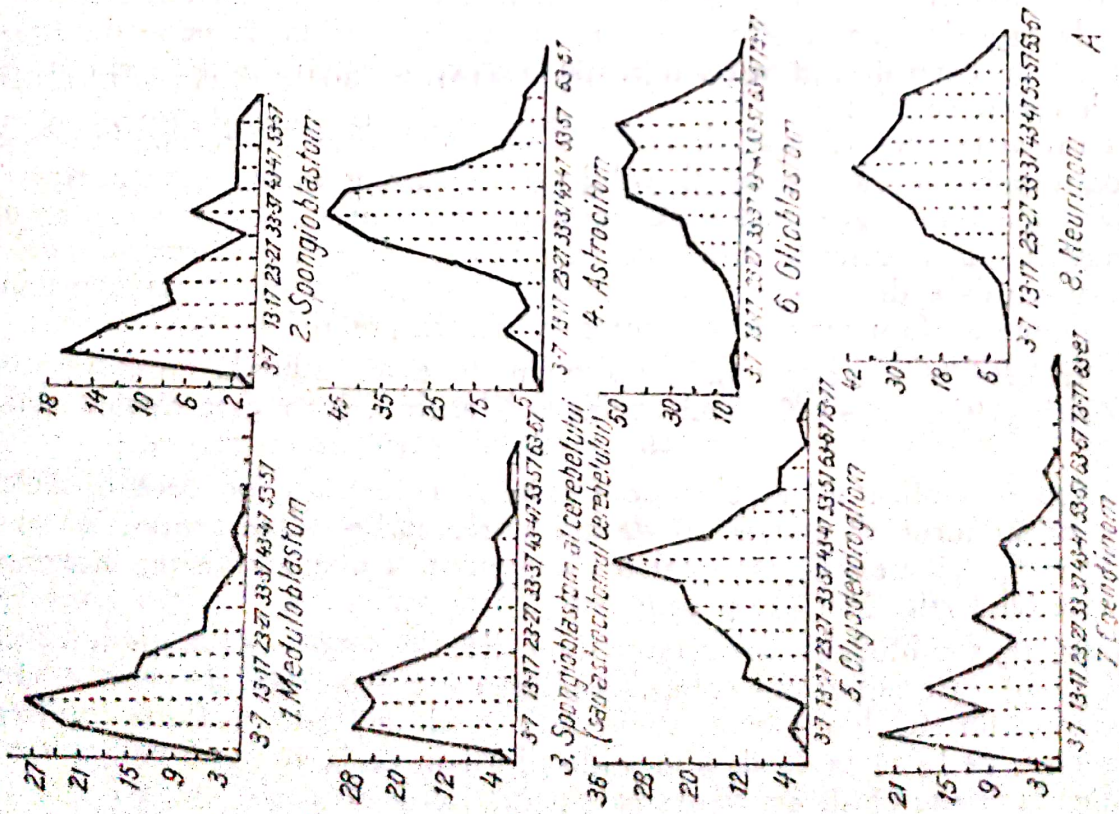


Fig. 28. 10. -- A și B: Distribuția pe grupe de vîrstă a diferitelor tipuri de tumori cerebrale (statistică pe 400 de cazuri clinice) (K. J. Zülch, 1956).

În fiecare perioadă a vieții predomină anumite tipuri de tumori cerebrale (vezi fig. 10 A și 10 B).

La copii și tineri (0—20 de ani) în hemisferele cerebrale se întâlnesc cel mai frecvent endocondroame și sarcoame ale creierului.

În regiunea chiasmei optice se întâlnesc frecvent crano-faringioamele și spongioblastoamele. Tumori nervoase frecvente în copilărie și tinerețe sînt și medulo-blastoamele, spongio-blastoamele (astrocitoame) și oligodendroglioamele talamusului.

Teratoamele sistemului nervos și pinealoamele apar aproape în majoritatea cazurilor sub 20 de ani.

Retino-blastoamele au maxima incidență tot în copilărie și tinerețe.

Rar sau foarte rar sînt întâlnite între 0 și 20 de ani meningioamele, care la vîrstele înaintate reprezintă numărul cel mai mare de tumori.

Neurinoamele aproape că nu se întâlnesc în această perioadă a vieții.

Tumorile vîrstei mijlocii (21—45 de ani) sînt caracterizate prin apariția în număr crescut a gliomelor hemisferelor cerebrale, hipofizadenomelor, neurinoamelor și a angioblastoamelor.

Tumorile vîrstei de involuție (46—65 ani) sînt caracterizate prin apariția frecventă a glioblastoamelor maligne și a metastazelor unor tumori maligne cu sediu în restul corpului; se întâlnesc frecvent și meningioamele, angioblastoamele ș.a.

La vîrsta bătrîneții (peste 65 de ani) apar pe primul plan glioblastoamele, meningioamele, neurinoamele și metastazele.

Pentru Moersch, Craig și Kernohan numai 8% din tumorile sistemului nervos se întâlnesc la indivizii trecuți de 60 de ani. Nu se cunosc cauzele care fac ca sistemul nervos să aibă aceste particularități în ceea ce privește frecvența pe vîrste a diferitelor tipuri de tumori. Multe tumori nervoase întâlnite pînă la 20 de ani își au explicația în tulburările de dezvoltare embrionară a sistemului nervos (ependimoamele, spongio-blastoamele, teratoamele, pinealoamele și crano-faringioamele).

— Referitor la incidența crescută a epitelioamelor organelor parenchimatose la adulți și bătrîni, o posibilă explicație ar fi legată de rolul important pe care-l au organele epiteliale (pielea, tubul digestiv, rinichiul, ficatul, glandele endocrine etc.) de a metaboliza substanțele nocive (multe din ele sînt cancerigene) din mediul ambiant, substanțe nocive care devin din ce în ce mai bogate în mediul de viață, fiind legate de progresul civilizației; industrializarea excesivă și nerațională care duce inevitabil, prin nerespectarea măsurilor igienice impuse, la poluarea aerului, apelor și solului; excesul de conservanți și coloranți alimentari; dezvoltarea industriilor nucleare; dezvoltarea industriei de chimicale cu nuclei steroizi și hidrocarburi cancerigene (coloranți); utilizarea largă a insecto-fungicidelor (DDT este cancerigen); creșterea consumului de tutun etc. De asemenea, trebuie notată aflatoxina din gramineele muceizite, substanță chimică hepato-cancerigenă.

Este cunoscut faptul că aceste noxe cancerigene acționînd o lungă perioadă de timp asupra organelor parenchimatose, epiteliale mai ales, care le metabolizează, pot induce modificări celulare, care prin acumulare în timp determină saltul calitativ spre cancerizare. Druckrey (1963), Graffi A., ca și alți autori au arătat că pînă la un anumit punct aceste modificări celulare, de cancerizare, apar cînd aceste modificări devin ireversibile.

Este necesar uneori un interval mare de timp ca să se producă cancerizarea (20—30 de ani). De exemplu: lucrătorii din industria coloranților de anilină care au lucrat o lungă perioadă de timp în contact cu noxele cancerigene fac cancerul vezical la vârste înaintate, după pensionare; de asemenea, cicatricele vicioase de arsuri, suferite în copilărie, se cancerizează de obicei după 60 de ani.

Doll a remarcat fenomenul și la fumători. Marii fumători au șanse cu mult mai mari să facă cancerul pulmonar decât nefumătorii. Procentul de cancerizare scade, dacă perioada de fumat intensiv a fost mai scurtă. Există însă un anumit moment (după o lungă perioadă de fumat) când, chiar dacă subiectul se lasă de fumat, frecvența crescută a cancerului pulmonar nu mai poate fi diminuată.

Iată de ce unii autori consideră că prelungirea vieții expune organele parenchimatoase epiteliale mai mult timp la noxele cancerigene (atât de abundente în mediul ambiant) și creează condiții pentru apariția cancerelor într-o incidență crescută.

28.8.

Există vârste nefavorabile evoluției cancerelor?

Asupra interrelației vârstă — prognostic (ritmul de evoluție a neoplaziei) lipsesc date concludente. Unii susțin că nu ar exista nici o interrelație.

Mulți clinicieni afirmă că neoplaziile ar evolua mai rapid la tineri, la bătrâni evoluția fiind mai lentă. Ne asociem întru totul la această afirmație. În prezent, împreună cu colaboratorii noștri, analizăm pe localizări numeroase cazuri ale Institutului Oncologic Cluj (circa 15 000) pentru a verifica această constatare empirică.

În cancerul de col uterin (fig. 28.11), analizând 796 de cazuri, toate în stadiul III clinic, deci în stadiu avansat, și tratate în același mod (radio-chirurgical cu intenția de radicalitate), M. Rîșcă a constatat evident că acest tip de cancer prezintă o mai mare malignitate la vârstele tinere (de exemplu între 20 și 29 de ani, supraviețuiri la 5 ani sînt doar 9,09%), în contrast cu malignitatea mai atenuată pe care o au la vârste mai înaintate (de exemplu, între 50 și 59 de ani supraviețuirile la 5 ani au fost de 23,70%). Lotul de bolnave peste 60 de ani nu este semnificativ, deoarece multe bolnave bătrîne au decedat din cauze intercurrente, altele decât cancerul (cardiopatii, senilitate etc.); și la stadiul al II-lea clinic se constată același fenomen.

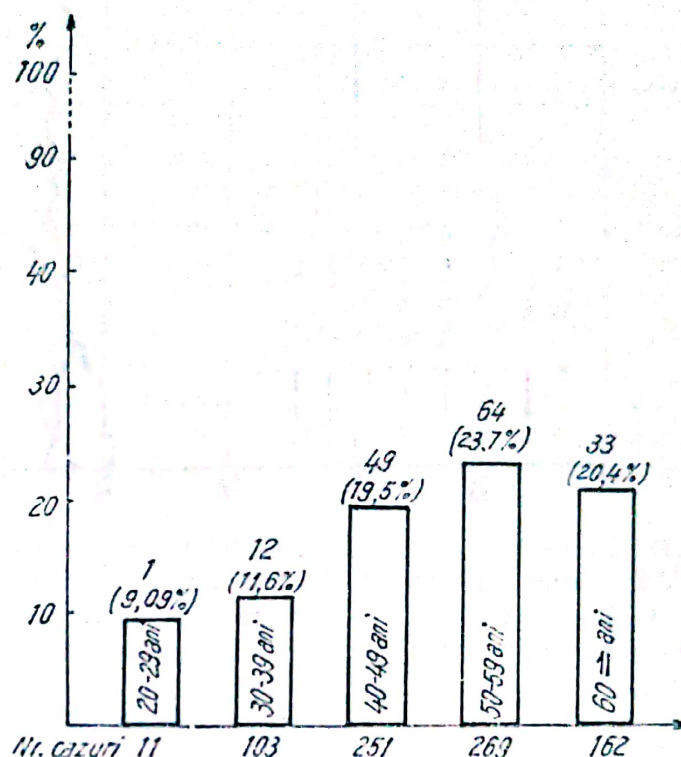
În cancerul rectal, din cele 150 de cazuri internate, operația nu a putut fi executată niciodată cu intenția de radicalitate la bolnavii sub 30 de ani, deoarece boala avea un grad de diseminare și un ritm de evoluție mult mai sever decât la bolnavii peste 30 de ani. În cazurile operate, prognosticul a fost infaust aproape de regulă.

Analizînd cazurile clinicii Mayo (SUA), Mayo ș.a. (1963) subliniază faptul că prognosticul cancerelor rectale sub 30 de ani este mult mai sever decât la adulții înaintați și bătrîni, chiar în cazurile operate cu intenție de radicalitate.

În cazurile personale au existat multe cancere rectale la bătrîni (peste 70 de ani), unde din cauza vârstei înaintate operația radicală (rezecția sau amputația rectului) nu s-a putut indica. Tratamentul s-a limitat în tumorile stenozante la un anus iliac de derivație; în tumorile nestenozante (de mai mici

dimensiuni) nu s-a practicat anusul iliac, iar în unele cazuri s-au făcut electroexcizii limitate ale masei tumorale exofitice (prin rectoscop). Evident că tratamentele au fost paliative. Au fost surprinzător de multe cazuri care au trăit acceptabil încă 6—8 ani. Observația clinică subliniază faptul că la bătrâni evoluția cancerelor este mai lentă.

Fig. 28.11. — Reprezentarea grafică a malignității cancerului de col uterin (stadiul III clinic), în funcție de supraviețuirea pe grupe de vîrstă (cu tratament identic). Procentul de supraviețuire este cu atît mai mic, cu cît bolnava este mai tînără (studiu pe 996 de cazuri tratate în Institutul Oncologic Cluj). Coloanele reprezintă grupele de vîrstă. Cifrele sub coloane reprezintă numărul total al bolnavelor din grupa de vîrstă corespunzătoare. Cifrele de deasupra coloanelor reprezintă numărul supraviețuitoarelor după 5 ani de la încheierea tratamentului. Cifrele de deasupra coloanelor în paranteză reprezintă procentul de supraviețuire la grupa de vîrstă corespunzătoare (Rișcă M.).



Se cunoaște evoluția în puseuri evolutive care alternează cu perioade de stabilizare a multor tumori, caracter întîlnit chiar și la tineri. Probabil că există vîrste la care echilibrul umoral-endocrin și metabolic general este un factor de frînare a evoluției neoplazice, după cum există dereglări metabolice ale organismului, care bîciuesc evoluția cancerelor. Factorii biochimici care determină aceste aspecte ale interrelației tumoare-gazdă sînt încă necunoscuți, observația clinică fiind cea care a reliefat fenomenul.

Cancerul de sîn oferă cele mai multe dovezi ale acestei evoluții fazice a neoplaziei.

Există uneori stopări impresionante ale evoluției unui cancer, pentru ca peste cîțiva ani metastazarea și exitusul să survină în cîteva zile.

Țurui ș.a. (1953) citează un caz clinic asemănător.

Iată observația clinică:

— Bolnavul C.A., în vîrstă de 16 ani, este internat pentru tumoare hepatică; la laparotomie se constată prezența unui epitelom atipic al ficatului (biopsie interpretată de un excelent anatomo-patolog). Starea bolnavului fiind serioasă, este trimis să sucombe la domiciliu. Nu urmează nici un tratament. Se reface treplat, crește și se dezvoltă normal, începe să ducă o viață activă, devenind un bun elev și un bun sportiv (fotbalist).

După 6 ani de la internare (avea acum 21 de ani) starea generală se agravează brusc, slăbește alarmant (cașexie) și este reinternat în aceeași clinică. Se practică o laparotomie și se constată o diseminare masivă a cancerului hepatic. Biopsia confirmă malignitatea, epitelom atipic.

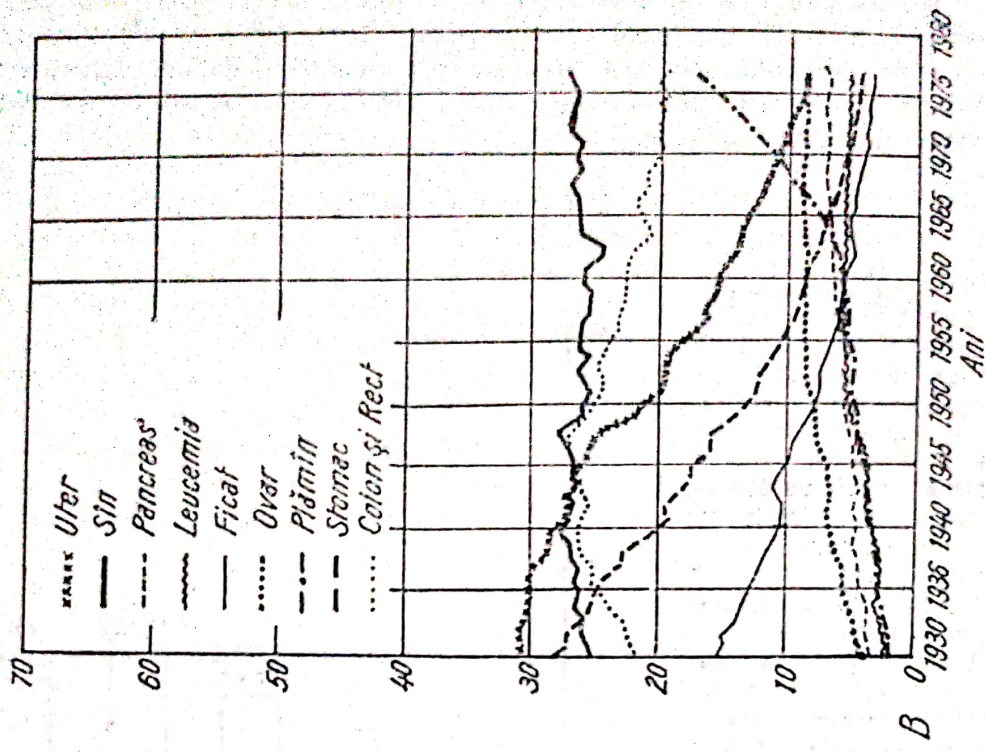
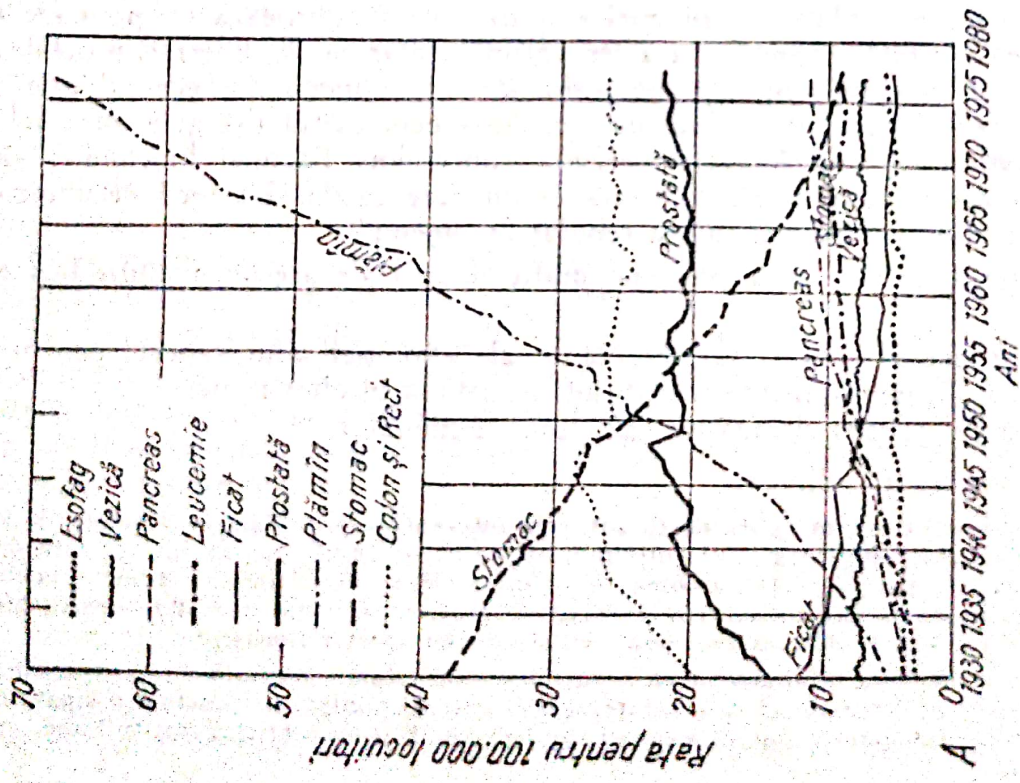


Fig. 28.12. — A. și B.: Mortalitatea prin cancer în SUA pe o perioadă de 46 ani (1930—1976). Se observă scăderea mortalității în cancerul de col uterin și gastric; cancerul pulmonar crește vertiginos.

De ce 6 ani cancerul hepatic a fost frinat spectacular în evoluția sa? De ce o dată cu terminarea perioadei de creștere, la aceeași „răspintie a vieții” (vârsta de 20 de ani), despre care vorbește Zuleh (1956), referitor la tumorile cerebrale, procesul canceros își reia evoluția dramatică, exitusul survenind la 4 zile după o simplă laparatomie exploratoare? Nu cumva echilibrul hormonal-umoral care caracterizează perioada de creștere (14–20 de ani) a crescut rezistența gazdei față de tumoare? Sînt întrebări la care în stadiul actual al cunoștințelor nu se poate răspunde cu date biochimice sau biofizice, limitîndu-se doar la constatarea clinică.

Încheiem acest studiu fără concluzii finale ferme, doar cu acea vag definită interrelație între vîrstă și cancer. De cele mai multe ori, materialul faptic clinic este interpretat prin presupuneri și ipoteze.

Boyd (1963) susține că mortalitatea prin cancer este în mod aparent paradoxal, un indicator al stării de organizare sanitară a unei colectivități; mortalitatea crescută prin cancer este urmarea unei bune medicine preventive, care evită mortalitatea infantilă, bolile infecto-contagioase și alte cauze de mortalitate existente în țările subdezvoltate. Îl citează pe Addison, care „descrie masele de oameni încrucișînd puntea vieții care trece peste rîul morții, căzînd în apele negre de dedesubt. Puntea prezintă numeroase capcane, mortalitatea infantilă, bolile contagioase ș.a., prin care pot cădea trecătorii, dar acestea se deschid din ce în ce mai rar acum. Mereu mai mulți se apropie de capătul podului și ies prin cîteva uși largi ca: apoplexia, infarctul cardiac și mai ales cancerul”.

Faptul este confirmat de o statistică recentă a lui Silverberg (1981), care arată că între primele 10 cauze de decese din SUA (datele anului 1977) cancerul ocupă locul al II-lea, indiferent de sex, cu o proporție de 20,4% (pe primul loc situîndu-se mortalitatea prin afecțiuni cardio-vasculare cu 37,8%).

Ce concluzii putem trage din acest capitol?

1. Toate vîrstele sînt încărcate ca patologie, cu boala cancerosă, care este în creștere la adulți și bătrîni.

2. Cancerul este o cauză importantă de mortalitate, în țările dezvoltate, fiind deocamdată pe locul doi.

3. Cu toate că unele localizări se reduc ca frecvență (fig. 28.12) cum ar fi cancerul gastric sau cancerul de col uterin (relația vîrstă înaintată și apariția acestor cancere este însă păstrată) (fig. 28.13). Alte cancere (localizări) își cresc frecvența (leucemiile, cancerul mamar, cancerul colo-rectal, cancerul de prostată, cancerul de ovar); mortalitatea globală prin cancer este în creștere în stadiul actual al cunoștințelor noastre asupra etiologiei diagnosticului precoce, tratamentului și profilaxiei acestei boli.

Bibliografie

- BOYD W. A. — A Textbook of Pathology, Ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1963.
 BURNET F. M. — *Lancet*, 1967, 1, p. 1171.
 BURNET F. M. — *Brit. Med. Bull.*, 1964, 20, 154.
 BRATANOV B., DOSPEVSKI D., DONTCHEVA (SOFIA) — *Arch. Union Med. Balcan.*, 1970, VIII, 1, 19.
 BERNDT E., LANDMANN R. — *Arch. Geschw.*, 1969, 13, 2, 157.
 CHIRICUȚĂ I. — În: *Biologia moleculară și medicina modernă*, sub redacția: prof. O. Fodor, Ed. Medicală București, 1969.
 CLEMMESSEN J. — *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, 1965, 174, 249–276.

29.

Tanatogeneza în cancer*

RODICA RIȘCĂ

Cuprins

- 29.1. Decese datorate proprietăților tumorale — 815
- 29.2. Decese datorate organismului gazdă — 816
- 29.3. Decese datorate actelor terapeutice — 816
- 29.4. Tulburări și dezechilibre psihice — 817

Neoplaziile maligne pot fi răspunzătoare de sfârșit letal din multiple motive. Fiecare caz în parte își face propria sa boală și evoluția sa particulară.

Studiul global al cauzelor de deces în cancer scoate în evidență următoarele posibilități:

- a) decese datorate proprietăților tumorale;
- b) decese datorate organismului gazdă;
- c) decese datorate actelor terapeutice;
- d) tulburări și dezechilibre psihice.

29.1.

Decese datorate proprietăților tumorale

— Una dintre caracteristicile esențiale ale tumorilor maligne este *creșterea infiltrativ-invazivă*, datorită căreia se poate exclude funcțional organul în care s-a dezvoltat tumoarea primară. În funcție de sediul tumorii primare se pot întâlni: insuficiențe respiratorii, hepatice, suprarenale, come cerebrale etc.

— Capacitatea de diseminare la distanță și constituirea de *tumori metastatice* cu creștere autonomă pot să aibă aceleași rezultate de excludere funcțională a unor organe vitale.

— Tumorile maligne pot să comprime conducte vitale (căi respiratorii, urinare, biliare), vase sangvine sau organe vitale (măduva spinării, encefalu).

* *Tanatologia* — știința care studiază cauzele și mecanismele morții. Termenul a fost utilizat prima oară de Roswell Park în 1912 și provine din mitologia greacă: Thanatos, zeu protector și personificarea morții.

lul dînd hipertensiune intracraniană, plămînul prin intermediul unei colecții pleurale etc.).

— Tumorile maligne se pot *ulcera* și *suprainfecta*, antrenînd hemoragii sau perforații (mai ales la tubul digestiv) sau accidente hemoragice fatale prin erodarea unor vase mari.

— Numeroși bolnavi de cancer sucombă în stare de *cașexie canceroasă*, sindrom considerat adesea ca cea mai frecventă cauză de deces în cancer (Belpomme, 1979; Lagarde, 1976; Williams, 1980) (vezi capitolul „Celula canceroasă, țesutul malign”).

29.2.

Decese datorate organismului gazdă

Organismul gazdă, cu alte cuvinte terenul pe care evoluează procesul neoplazic, poate fi răspunzător de evoluția letală a unor cancere:

- organisme tarate din alte motive decît cele neoplazice;
- dezechilibre hormonale grave;
- deficiențe imunitare care pot trece în insuficiențe grave cu sfîrșit letal, mai ales prin episoade septice.

29.3.

Decese datorate actelor terapeutice

Complicațiile postterapeutice nu sînt evenimente rare în clinica oncologică, datorîndu-se în marea majoritate a cazurilor stadiului avansat al bolii, în care, limitele dintre necesitățile terapeutice (uneori drastice), pentru a obține efecte antitumorale și toleranța bolnavului la tratament sînt extrem de reduse. Complicațiile în raport cu actul terapeutic sînt foarte diferite și dependente de: tipul tratamentului, organul lezat, momentul apariției lor în funcție de debutul tratamentului, starea organismului etc. (Lagarde, 1976).

Tratamentul chirurgical oscilează încă între intervenții limitate (care prezintă riscul de a lăsa pe loc focare tumorale) și intervenții foarte largi (care pot da sechele mutilante).

Actul chirurgical poate fi o cauză de deces prin numeroase complicații precoce sau tardive pe care le poate antrena.

Radioterapia poate genera necroze, hemoragii, infecții, boală actinică, uneori fatale. În categoria complicațiilor tardive se pot înscrie și radioleucemiile sau tumorile maligne apărute pe teritoriul iradiat.

Chimioterapia, în ciuda progreselor realizate în ultimii ani, este încă un mijloc terapeutic de înaltă toxicitate. Efectele secundare ale medicamentelor citostatice se pot manifesta de la leziuni ireversibile ale unor organe vitale (ficat, inimă, rinichi) pînă la constituirea bolii citostatice.

Imunoterapia, achiziție de dată mai recentă, utilizată inoportun poate agrava deficiențele imunitare ale organismelor cu cancer, obținîndu-se efecte contrarii.

Actul terapeutic deci, indiferent de metoda utilizată poate să fie cauză de deces în cancer. Atunci cînd aceste acte terapeutice sînt realizate în instituții specializate de oameni competenți, accidentele sînt rare. Există

firește și incompetență profesională și entuziasm de „tămăduitor“, care pot să aibă consecințe grave, problemă care depășește limitele unui tratat de oncologie și aparține domeniului deontologiei medicale.

29.4.

Tulburări și dezechilibre psihice

Tulburările psihice la bolnavul canceros pot fi declanșate de:

- un psihic labil, inadptabil la starea de boală în general și la cancer în special și care poate determina o stingere lentă, fără luptă a bolnavului sau luarea de decizii dramatice și categorice cum ar fi sinuciderea;
- un psihic alterat de existența unor tumori primare sau metastaze cerebrale, cu consecințe comportamentale similare celor descrise anterior. În literatură se cunoaște sindromul Forestal, sinucidere prin aruncare de la înălțime la bolnavii cu tumori cerebrale, mai frecvent cu localizare în lobul frontal.

Am făcut o scurtă trecere în revistă a cauzelor principale de deces în cancer, detaliile fiind tratate pe larg în capitolele: celula canceroasă, țesutul malign, procesul de metastazare, biochimia celulelor canceroase, imunologia tumorilor.

În prezent se depun eforturi uriașe pentru cercetarea cauzelor și mecanismelor prin care survine moartea la bolnavul canceros. Multiplele aspecte ale tanatogenezei în cancer, precum și unele situații paradoxale (tumoare de volum mic ce induce cașexie avansată sau tumori de volum mare, fără influențe evidente asupra stării generale), reprezintă teme de studiu multidisciplinar (biologic, biochimic, imunologic etc.). Fiecare plus de informație ne va ajuta să înțelegem mai bine complexa biologie a cancerului și să utilizăm mai bine mijloacele terapeutice de care dispunem.

Bibliografie

- BELLPOMME D. — *Cancérologie Générale*, Ed. J. B. Baillière, Paris, 1979, 93—102.
LAGARDE C., HOERNI B., MARÉE D. — *Cancérologie Clinique*, Ed. Masson, Paris, New York, Barcelona, Milan, 1976, p. 78—82.
WILLIAMS J. F., MATTHAEI K. I., GRAHAM M., TAYLOR R. — *Cancer Forum*, 1980, 21, 118—129.

IV.

precancerul și cancerul profesional

30.

Precancerul

S. MUNTEANU

Cuprins

- 30.1. Generalități. Scurt istoric. Definiție — 821
- 30.2. Precancerul din punct de vedere morfologic — 823
 - 30.2.1. Precancerul colului uterin — 823
 - 30.2.2. Precancerul pulmonar — 829
 - 30.2.3. Precancerul gastric — 831
 - 30.2.4. Precancerul recto-colic — 833
 - 30.2.5. Precancerul sinului — 835
 - 30.2.6. Precancerul adenocarcinomului de endometru — 836
- 30.3. Clinica stărilor precanceroase — 837
 - 30.3.1. Colul uterin — 838
 - 30.3.2. Sinul — 840
- 30.4. Precancerul din punct de vedere experimental — 844
- 30.5. Precancerul, noțiune epidemiologică — 846
- 30.6. Precancerul, noțiune organizatorică — 847

30.1.

Generalități. Scurt istoric. Definiție

În procesul carcinogenetic există teoretic unele etape care premere apariției celulei canceroase, etape sesizabile de la nivel genetic, biochimic sau numai histologic. Aceste etape ar putea fi cuprinse generic, în accepțiunea actuală, sub denumirea de precancer. În momentul în care aceste leziuni devin depistabile și pot fi oprite în evoluția lor prin tratament se face de fapt profilaxia cancerului, în înțelesul cel mai larg al cuvântului.

Chiar dacă nu exact în sensul acesta, termenul de „precancer“, „stare precanceroasă“, „leziune precanceroasă“ a fost folosit pentru prima dată de Victor Babeș în 1879, care pe atunci semnala posibilitatea ca „un iritant formativ asupra țesuturilor uterine să dea naștere la fibromioame, adenoame care pot degenera în cancer“. El revendică mai târziu (1924) paternitatea termenului de precancer, pe care Dubreuilh l-a folosit abia după 1890 pentru anumite keratoze cu tendință marcată la cancerizare. În anii care au urmat, Victor Babeș a revenit de mai multe ori asupra termenului și, cu o intuiție surprinzătoare a sesizat câteva elemente esențiale (1908, 1924):

- că starea precanceroasă nu trebuie confundată cu „predispoziția“ pentru cancer;
- că aceasta poate să rămână mult timp latentă;

— că stările precanceroase sînt urmarea unei „iritații vechi, ulcer, arsuri, cicatrice vechi“, în cadrul cărora „se selectează o rasă de celule răzvrătite, care devenind independente se îndreaptă... în contra organismului din care au luat naștere și caută să-l distrugă“, în germene teoria „selecției clonale“, enunțată de Burnett (1959);

— că în „aproape 80% din cazuri cancerul nu apare ca un cancer, ci ca o iritație cronică banală“ (din context rezultă ca fiind vorba de o stare precanceroasă);

— că „în prevenirea cancerului tocmai stările precanceroase trebuie eunoscute, depistate și combătute“;

— că intervalul de timp îndelungat în care persistă starea precanceroasă „pune pe medic sau chirurg în posibilitatea de a opri la timp dezvoltarea cancerului“.

Din toate aceste citate rezultă că de fapt V. Babeș nu numai că a folosit primul termenul de precancer, dar i-a dat și un conținut care rămîne pînă azi, după mai bine de un secol, remarcabil de exact și mai ales a întrevăzut faptul că leziunile precanceroase reprezintă elementul pivot în profilaxia cancerului.

Noțiunea de precancer și-a făcut loc relativ greu în patologie, fiind de la început foarte controversată din punct de vedere semantic și mai ales în privința substratului lezional pe care îl definește. O obiecțiune care se mai face auzită uneori și astăzi, privește termenul ca atare, definind o leziune ce se transformă „obligator“ în cancer, ceea ce nu se întîmplă în realitate și mai ales ar crea o panică inacceptabilă pentru bolnav.

S-a propus ca o alternativă termenul de „preneoplazie“ sau de leziune „pre-malignă“, care evident nu schimbă cu nimic lucrurile. Cum între timp s-au realizat numeroase clarificări în privința conținutului noțiunii, s-a rămas la vechiul termen, negăsindu-se altul mai potrivit, astfel că în țările europene se întîlnește mai frecvent termenul de „precancer“ sau „stadii premergătoare cancerului“ („Krebsvorstadien“) iar în țările anglofone termenul de „pre malignitate“ sau „precanceroză“. Conținutul noțiunii a dat loc la și mai numeroase interpretări. Astfel, pentru Unna „precancerul este o stare morbidă care întotdeauna, deseori sau uneori se transformă în cancer“; pentru Darier și Ménétrier „o afecțiune care se transformă ulterior în cancer“, iar pentru Bauer „orice cancer are o stare precanceroasă corespunzătoare, dar nu toate stările precanceroase se transformă obligatoriu în cancer“ (toți citați de Costăchel, 1961).

În accepțiunea actuală se poate defini *precancerul* ca un ansamblu de leziuni care apar în procesul de cancerizare și care, dacă nu sînt deranjate în evoluția lor naturală (prin procedee diagnostice și/sau terapeutice) se pot transforma într-o proporție semnificativă în cancer. Această definiție satisface majoritatea concepțiilor actuale, este destul de restrictivă pentru a preciza exact locul ocupat de precancer în procesul carcinogenetic și pentru a nu permite unele exagerări inutile, așa cum a făcut Haranghy (1951), care a inclus în lista leziunilor precanceroase aproape întreaga patologie. De asemenea, această definiție este aplicabilă la totalitatea stărilor morbide recunoscute azi ca stări precanceroase, indiferent de localizare, lăsînd loc și pentru afecțiunile pentru care încă nu există suficiente argumente să fie considerate ca atare.

Termenul de „leziune precanceroasă” se suprapune astăzi unui anumit substrat histo-patologic, sesizabil prin mijloacele curente cito-histologice, dar nu exclude un substrat depistabil la un alt nivel de organizare biologică (biochimic sau molecular), domeniu care ar aparține fără îndoială viitorului.

Problema precancerului poate fi abordată pe multiple planuri:

- precancerul are în primul rând un anumit substrat *morfologic*;
- precancerul poate fi studiat din punct de vedere *clinic*;
- precancerul poate fi studiat din punct de vedere *experimental*;
- precancerul poate fi abordat de pe poziția *epidemiologului*;
- precancerul este în mare măsură o noțiune *organizatorică*.

30.2.

Precancerul din punct de vedere morfologic

Părerile diferiților autori nu sînt total concordante. Pe de o parte nu există un acord general asupra cancerelor inițial localizate, la care în mod real se poate vorbi de o stare precanceroasă, iar pe de altă parte există o diversitate de păreri privind gradul de gravitate al unei leziuni apărută în procesul carcinogenetic, care poate fi considerată un precancer. Astfel, de exemplu, unii afirmă și alții neagă faptul că pentru neoplasmul gastric ulcerul cronic calos ar constitui o stare precanceroasă, iar în privința cancerului colului uterin unii consideră stări precanceroase displaziile agravate, alții toate displaziile, iar alții includ și carcinomul intraepitelial, socotind că se poate vorbi cu adevărat de un cancer numai în faza cînd acesta devine invaziv.

În cele ce urmează, vom prezenta în ordine cîteva stări precanceroase care întrunesc accepțiunea majorității autorilor moderni și mai ales cu intenția de a fundamenta *conceptul morfologic* de precancer.

30.2.1.

Precancerul colului uterin

Prin situația sa superficială, care îl face accesibil unor mijloace directe de explorare, precancerul colului uterin a fost cel mai temeinic studiat și se integrează perfect în concepția actuală asupra noțiunii. De altfel precancerul colului uterin poate fi considerat și ca un model de studiu pentru procesele similare care au loc în toate epiteliile, dar care sînt mult mai greu accesibile mijloacelor clinice și paraclinice de examinare.

Înțelegerea actuală a noțiunii de precancer al colului uterin este rezultatul nemijlocit al introducerii în practica curentă a două excelente mijloace de examinare paraclinică și de laborator: *colposcopia* și *citologia*. Coroborarea acestora permite, chiar și fără biopsie, aprecierea cu mare exactitate a leziunilor colului uterin, realizînd ceea ce se numește un „examen histopatologic anticipat”, cu un grad de acuratețe în jur de 98%, care permite urmărirea dinamică a colului lezional, fără să se interfereze cu evoluția naturală a leziunilor, adică oferă întregul „film” al carcinogenezei cervicale, începînd cu epiteliul normal, trecînd peste leziunile precanceroase, pînă la cancerul invaziv.

Colposcopia a permis identificarea primelor „pietre de hotar” dintre epiteliul normal și cel canceros, iar citologia a recunoscut și celelalte verigi ale

lanțului lezional neîntrerupt, în care se succed în ordine — păstrînd terminologia clasică — displazia ușoară, displazia moderată, displazia agravată, carcinomul intraepitelial, carcinomul microinvaziv și cancerul invaziv, clinic manifest.

Alături de colposcopie și citologie, unele examinări de mare finețe, cum ar fi: colpomicroscopia, examenele citogenetice, examenele autoradiografice, culturile de țesuturi, examenele biochimice și citochimice, examenele electro-optice au întregit tabloul carcinogenezei cervicale, fundamentînd ideea continuității lezionale, a filiației dintre leziunea benignă și cea malignă și, în acest context, a stărilor precanceroase ale colului uterin.

Una din cele mai evidente constatări ale acestor studii a fost marea varietate de leziuni, care se deosebesc între ele nu atît prin gradul de atipie celulară (caracterizată îndeosebi prin aspectul nediferențiat al celulei), cît mai ales prin amploarea extensiunii acestui proces în grosimea epitelului, ceea ce a dus la împărțirea acestor leziuni premergătoare cancerului invaziv în *displazii* (Reagan, 1953), cînd discarioza și perturbarea citoarhitectonicii normale nu interesează epitelul în toată grosimea ca și CIE (carcinom intraepitelial), cînd procesul patologic cuprinde epitelul în *toată grosimea sa*. În această accepțiune clasică privind terminologia leziunilor cervicale premergătoare cancerului invaziv, *precancerul colului uterin se plasează în zona displaziilor agravate* (severe), pentru că acestea se suprapun perfect peste conceptul de stare precanceroasă: netratate, ele evoluează într-o proporție semnificativă spre un cancer intraepitelial și apoi spre unul invaziv. În sens mai larg, toate displaziile au un potențial de malignizare, numai că durata evoluției lor spre un cancer este cu atît mai scurtă și proporția este cu atît mai mare, cu cît gradul de gravitate al leziunii este mai mare și invers. Pentru unii autori moderni, deși CIE are toate stigmatul cito-arhitectonice ale unui cancer, lipsa invaziei stromei și posibilitatea (rară) a unei involuții spontane îl plasează tot în grupul stărilor precanceroase, deși probabilitatea cancerizării acestuia este cu mult mai mare. În concepția noastră, cancerul intraepitelial rămîne un „cancer” și anume treapta lui cea mai incipientă și nu o stare precanceroasă; deci, granița dintre precancer și cancer se situează între displazia severă și CIE.

În ultimii ani, din ce în ce mai mulți autori recunosc că între displazii și CIE s-a creat o separare oarecum artificială (numeroși anatomo-patologi știu cît este uneori de greu să facă distincție între aceste două entități), cele două leziuni deosebindu-se de fapt mai ales prin elemente de ordin cantitativ, și au renunțat la această împărțire arbitrară a leziunilor intraepiteliale ale colului uterin adoptînd fără rezerve termenul propus de Richart (1966) de „neoplazie cervicală intraepitelială” (cervical intraepitelial neoplasia — CIN). În cadrul acestei neoplazii recunosc diferite grade de intensitate: CIN gr. I (corespunde displaziei „minime” și ușoare). CIN gr. II (corespunde displaziei moderate) și CIN gr. III (corespunde displaziei agravate și CIE). În această nouă terminologie, conceptul de precancer a dobîndit un aspect mai elastic, mai dinamic, în sensul că diagnosticul de CIN, subînțelegînd riscul potențial de agravare progresivă pînă la cancerul invaziv, impune o atenție sporită față de aceste leziuni, o anumită „agresivitate” diagnostică (examen citologic repetat, biopsie) și un tratament activ (prin metode conservatoare), realizîndu-se astfel o veritabilă profilaxie primară a cancerului colului uterin.

Acastă fiind prezentarea sumară a leziunilor epiteliale cervicale care premarg cancerul colului uterin, mai rămîne să se demonstreze faptul că ele au în mod real o legătură cu cancerul invaziv, că deci reprezintă stări precanceroase. În acest scop stau la dispoziție două categorii de argumente morfologice:

- concomitența acestor leziuni cu cancerul invaziv și
- succesiunea lor, evidențiată prin studii prospective.

a) Observații deja vechi au atras atenția asupra faptului că adesea, la periferia unui cancer invaziv incipient al colului uterin există leziuni epiteliale de gravitate descrescîndă, CIE și displazii numite generic „Randbelag” (depozit marginal). Cercetări mai recente (Krüger, 1957; Koss, 1964; Rieper, 1965; Hillemans, 1968; Burghardt, 1969, 1970, 1972 ș.a.) au arătat că leziunea epitelială incipientă (de exemplu o hiperplazie a celulelor bazale sau o hiperplazie a celulelor de rezervă, ambele cu unele aspecte de atipie celulară), avînd un grad moderat de dediferențiere, pe măsura creșterii în dimensiune se dispune în mod polarizat, cu o componentă mai bine diferențiată (CIN gr. I) în vecinătatea epiteliului pavimentos, deci spre exocol și cu alta progresiv mai rău diferențiată (CIN gr. II—III, inclusiv cancerul invaziv) în vecinătatea epiteliului cilindric, deci în direcția canalului cervical. Bangle (1963) arată că în imediata vecinătate a unui cancer invaziv epiteliul este normal în numai 6% din cazuri, este displazic în 86% și cu zone de CIE în 57%; Varga (1966) arată că atunci cînd displazia a cuprins mai puțin de jumătate din grosimea epiteliului, asocierea cu CIE a fost de 8%, iar cînd displazia a cuprins mai mult de 3/4 din grosimea epiteliului, asocierea cu CIE a crescut la 52%. La fel, Reagan și Wentz (1967), într-un excelent studiu asupra istoriei naturale a cancerului colului uterin au arătat că 84% din cancerele invazive inciente erau asociate la periferie cu leziuni de gravitate mai mică (diferite grade de displazie și CIE).

Concomitența într-o proporție atît de ridicată a cancerului invaziv cu leziuni intraepiteliale de gravitate crescîndă reprezintă un argument ferm în favoarea considerării acestora drept stări precanceroase, sugerînd că fac parte din același proces patogenetic, reprezentînd trepte succesive de gravitate în carcinogeneza cervicală.

b) Fără îndoială un argument morfologic major în sprijinul noțiunii de precancer este adus de studiile prospective, care au urmărit evoluția naturală a celor mai inciente leziuni intraepiteliale pînă la constituirea unui cancer invaziv. Acest gen de studii s-a lovit la început de două obstacole importante:

— mijloacele de diagnostic folosite (biopsia țintită colposcopic sau pe zone iod-negative) riscă să îndepărteze în totalitate leziunea, cazul fiind astfel pierdut din studiul de urmărire, sau dacă o parte din leziunea inițială persistă, nu există siguranța că aceasta are un grad de gravitate identic cu cel al zonei biopsiate. Mai există apoi riscul ca evoluția naturală a leziunii reziduale să fie alterată prin procesele de regenerare (cicatrizare) de vecinătate:

— al doilea obstacol este de ordin etic: diagnosticarea unor leziuni premargătoare cancerului obligă moralmente la introducerea unor măsuri terapeutice imediate în scopul asanării lor, înainte de a evolua spre un cancer, deci un studiu prospectiv de acest gen este principial contrar normelor de etică medicală.

Introducerea examenului citologic în practica de rutină și în mari acțiuni de masă a rezolvat ambele impedimente:

— pe de o parte acuratețea examenului citologic a ajuns să fie atât de ridicată, încât în anumite condiții de cercetare se poate renunța la biopsie și totuși să se stabilească un diagnostic histologic anticipat, cu o acuratețe de peste 98%. În acest scop se recoltează 3 frotiuri citologice consecutive la interval de 2—3 săptămâni și dacă toate trei sugerează aceeași leziune (de exemplu o displazie ușoară), confirmată eventual și colpomicroscopic, se poate avea aproape 100% certitudinea că acest diagnostic este exact. Urmărirea în timp (studiu prospectiv) se face apoi prin repetarea la intervale regulate (3—6 luni) a frotiurilor, prin modalitatea amintită;

— în marile acțiuni citologice de masă se găsesc numeroase cazuri cu leziuni prezumtive de neoplazie cervicală intraepitelială, care urmează să fie luate imediat în tratament, dar din motive independente de medic unele din aceste bolnave „se pierd” pe o durată de timp variabilă, reapărînd după luni sau ani, perioadă în care leziunea epitelială inițial depistată a avut o evoluție naturală nestingherită. Ele fac obiectul majorității studiilor prospective, mai ales mai vechi.

După 1950, cercetările care au urmărit evoluția naturală a leziunilor epiteliale au fost numeroase (Wespi, 1949; Reagan și colab., 1953, 1955; Petersen, 1956; Fluhman, 1961; Koss, 1961; Scott și Ballard, 1962; Koss și colab., 1963; Nieburgs, 1963 ș.a.). O bună parte din acestea nu mai pot fi luate astăzi în considerare pentru că diagnosticul inițial s-a făcut prin prelevarea unui fragment pentru biopsie (vezi cele arătate înainte), durata de urmărire nu a fost suficient de îndelungată (la unii nespecificată), unele serii de cazuri au fost foarte mici etc. Din autorii citați, a impresionat la timpul său studiul lui Petersen (1956), care a urmărit 127 de displazii „atipice” (aggravate, CIN gr. III în nomenclatura actuală) între 1 și 9 ani și a constatat următoarele:

— din 127 de cazuri urmărite 1 an, 19,7 au regresat, 53,8% au persistat, 4,0% au evoluat spre un cancer invaziv;

— din 127 de cazuri urmărite 3 ani, 23,0% au regresat, 39,4% au persistat, 11,0% au evoluat spre un cancer invaziv;

— din 104 cazuri urmărite 5 ani, 26,0% au regresat, 26,9% au persistat, 22,0% au evoluat spre un cancer invaziv;

— din 42 de cazuri urmărite 9 ani, 23,4% au regresat, 14,3% au persistat, 33,0% au evoluat spre un cancer invaziv.

Mai recent, Richart și Barron (1969) au plecat în studiul lor prospectiv de la 557 de displazii (de diferite grade) diagnosticate ca atare prin metoda celor 3 frotiuri consecutive și pe care le-au urmărit la intervale apropiate de 1—4 luni. Bolnavele au fost scoase din studiu atunci când 3 examinări citologice consecutive au fost normale, indicînd regresiunea spontană a leziunii, sau când un frotiu a sugerat prezența unui CIE, confirmat apoi ca atare printr-o biopsie țintită sau conizație. Ei au constatat că timpul mediu de evoluție a displaziei spre CIE a fost de 85 de luni (7 ani) pentru displazia foarte ușoară („minimă”), de 58 de luni pentru cea ușoară, de 38 de luni pentru cea moderată și de 12 luni pentru cea agravată; timpul mediu de evoluție a displaziei spre CIE (indiferent de gravitatea displaziei) a fost de 44 de luni.

Studii epidemiologice (vezi mai departe) au arătat că într-adevăr, incidența maximă a displaziilor este sub 30 de ani, a CIE în jurul vârstei de

40 de ani și a cancerului invaziv între 45 și 49 de ani, ceea ce demonstrează că durata evoluției acestor precursori ai cancerului invaziv cervical este de ordinul a 10—20 de ani.

În concluzia numeroaselor studii de morfologie privind histogeneza cancerului colului uterin rezultă îndubitabil că atunci când evoluția naturală a unui CIN nu este alterată prin metodele de diagnostic și de urmărire (sau de tratament), acesta trece prin grade succesive de gravitate, într-o proporție de cazuri cu atât mai mare, cu cât leziunea inițială a fost mai severă și durata de urmărire mai îndelungată. Aceasta revine indirect la a spune că neoplazia cervicală intraepitelială, mai ales cea de grad avansat (CIN gr. III) reprezintă o veritabilă stare precanceroasă pentru neoplasmul invaziv al colului uterin, în condițiile unei evoluții naturale nealterate și a unei durate de timp suficient de îndelungată.

La un nivel *infrastructural*, accesibil cercetării *electronooptice* (Cardoso, Shingleton și Richart ș.a.) se constată că epiteliul normal se deosebește net de oricare din gradele de CIN, în care există în schimb aceleași modificări ca și în cancerul invaziv (alterări ale microvililor și desmozomilor, anomalii de contur, volum și structură nucleară, anomalii citoplasmatică, toate reflectând un proces de diferențiere și intensificare a activității mitotice). Aceste modificări calitative sînt prezente deja din faza de displazie ușoară și le regăsim în ansamblul leziunilor de CIN și cancer invaziv, dar într-un grad și cu o frecvență care cresc cu severitatea leziunii, ceea ce, la nivel electronooptic, face uneori dificilă o distincție netă între displazie și CIE sau între CIE și cancerul invaziv. Aceste observații constituie încă un argument în favoarea faptului că neoplasmul invaziv al colului uterin este precedat de leziuni bine individualizate, care se dispun într-un lanț lezional continuu, sprijinind ideea de stare precanceroasă.

Foarte numeroase cercetări de morfologie au abordat un nivel structural și mai intim și anume *cel genetic*, prin studii de cariotip și microspectrofotometrie (Atkin, 1964, 1966, 1969; Boddington și colab., 1965; Richart și colab., 1964; 1966; Valeri și colab., 1967; Auersperg și colab., 1967; Brandac 1969; Wakonig-Vaartaja 1969 Dehnhard și colab., 1970; și mulți alții). S-a constatat că majoritatea leziunilor intraepiteliale arată anomalii ale numărului de cromozomi și ale valorilor ADN, existînd un grad de aneuploidie; descoperirea unui mod aneuploid al distribuției cromozomilor este în general considerată ca un criteriu relativ specific pentru malignitate. Datele din literatură și ale noastre (Chiricuță, Olinici, Munteanu, 1977) sînt consistente cu observația că diferitele grade de CIN au o distribuție cromozomială tot de tip aneuploid și că de foarte multe ori este imposibil, genetic, să se facă o distincție netă, între CIN gr. I, II sau III, sau chiar un cancer invaziv (cancerul invaziv și CIE se prezintă fie cu un mod hiperdiploid, fie hipotetraploid, fără deosebiri esențiale față de displazii) (Chiricuță și colab., 1976, 1977).

Studiind cariotipul în displazii, CIE și cancerul invaziv, Dehnhard și colab. (1977) atrag atenția asupra unui cromozom marker din grupa A, pe care — însumînd cercetările din literatură — îl găsesc în 17,7% din displazii și 19,3% din CIE (deci în proporție aproape egală) și de aproape 4 ori mai frecvent în cancerul invaziv (72,7%).

Mecanismul de producere a anomaliilor cromozomiale (aneuploidia, prezența cromozomilor markeri) nu este cunoscut, dar este posibil că apariția

repetată de noi genotipuri este rezultatul unei dezordini în diviziunea celulară. Din cauza acestei diversități genetice, leziunile colului uterin, de diferite grade de gravitate, sînt constituite de o populație celulară foarte eterogenă, realizînd mai multe linii celulare și un spectru larg, genetic distinct, de celule individuale. Într-o populație de celule neoplazice atît de eterogenă din punct de vedere genetic se poate anticipa că acționează un grad de selecție naturală, care operează și în cadrul progresiunii de la CIN la cancerul invaziv. Rezultatul acestui fenomen ar fi tendința la creștere a gradului de nediferențiere, deoarece celulele nediferențiate au un indice mitotic mai ridicat. Ne-am putea deci aștepta să se selecteze o clonă celulară cu agresivitate mai mare (invazivitate), șansă cu atît mai mare, cu cît variația genetică este mai largă, populația celulară mai mare și turnoverul celular mai ridicat. De fapt, analizînd statistic un mare număr de bolnave cu leziuni cervicale intraepiteliale incipiente (CIN gr. I), se constată că potențialul acestora de a progresa spre un cancer invaziv este în funcție de mărimea (creșterea) leziunii și de amploarea turnoverului, dar aceleași observații sugerează ipoteza unui lanț patogenetic continuu între displazii și cancerul invaziv, cu manifestări la nivel subcelular cromozomial și că de fapt unele din aceste leziuni intraepiteliale sînt veritabile stări precanceroase. Din cele arătate rezultă că nu toate cazurile de displazie cu modificări cromozomiale se vor transforma în condițiile evoluției lor naturale în cancere invazive. Prezența însă a unor modificări cromozomiale în displazii înseamnă și un potențial evolutiv crescut; la fel, gradul și frecvența modificărilor cromozomiale și ale ADN în CIE traduc potențialul evolutiv al acestora spre un cancer invaziv. S-ar crea astfel posibilitatea desprinderii din marele grup al leziunilor neoplazice intraepiteliale a acelor cazuri care au dovada („stigmatul”) genetic al unui risc crescut de evoluție spre malignitate; acestea ar fi adevăratele stări precanceroase (indiferent de treapta de gravitate pe scara histologică). Această ipoteză, teoretic deosebit de atrăgătoare, se sprijină pe un argument statistic foarte semnificativ, proporția în care unele modificări cromozomiale (de exemplu prezența cromozomilor marker) sînt întîlnite în cadrul displaziilor și CIE, respectiv proporția în care cancerul invaziv se suprapune aproape exact cu frecvența general admisă privind transformarea displaziilor și CIE în cancer invaziv și care este de aproximativ un caz din patru.

Aceste constatări, în prezent mai mult de interes teoretic (fiind cunoscute dificultățile acestor studii genetice), au însă în perspectivă o deosebită valoare practică privind conceptul de leziune precanceroasă; există premise favorabile pentru a spera că depistarea leziunilor cervicale de interes oncologic să poată fi deplasată cu încă un pas în direcția precocității, de la nivelul histologic la cel genetic, cu alte cuvinte să folosim ceea ce am numit „malignitate la nivel cromozomial”, ca o modalitate de a recunoaște că unele leziuni intraepiteliale au un potențial crescut de evoluție spre malignitate încă dintr-o fază histologic foarte incipientă (Chiricuță, Munteanu, Olinici, 1976).

În lumina acestor date, studiile genetice aduc un argument hotărîtor pentru acceptarea noțiunii de precancer, pe care îl definesc ca pe o *tulburare a cantității de ADN și a structurii și distribuției cromozomice constant persistentă pe parcursul mai multor etape histologice, plecînd de la CIN gr. I și care conferă acestor cazuri stigmatul de risc crescut de transformare malignă*.

Am insistat mai pe larg asupra observațiilor morfologice privind precancerul colului uterin, pentru că acesta este cel mai bine studiat și mai ales pentru

că poate fi considerat ca un model de cercetare pentru precancerile oricăror alte epiteliilor de acoperire: epitelul bronșic, endometrul, epitelul gastric etc. În cele ce urmează, vor fi trecute în revistă pe scurt câteva date morfologice cu privire la precancerile altor localizări neoplazice.

30.2.2.

Precancerul pulmonar

Creșterea amenințătoare a incidenței cancerului bronho-pulmonar în ultimele decenii a incitat cercetări extensive privind histogeneza acestor neoplazii și în acest context și despre eventualele stări precanceroase. Fenomenul-pivot în jurul căruia se desfășoară întregul proces de cancerizare, fie el la bronșiile mari (segmentare și subsegmentare), fie la bronșiole și canalele alveolare, este *metaplazia pavimentoasă* a epitelului simplu cilindric (cubic) ciliat care tapetează întregul sistem al conductelor aeriene pulmonare.

Proliferări epiteliale atipice în arborele bronșic care premerg apariția cancerului au fost evidențiate încă din 1929 de Gray și Cordonnier. În 1941, Womack și Graham (toți citați de Spencer) au notat tumori microscopice similare, pe care le-au găsit în cadrul unei boli chistice congenitale și pe care le-au considerat drept proliferări atipice cu potențial de malignizare. În general, asemenea proliferări epiteliale atipice au fost asimilate la început, când cu cancer absolut incipient, când cu precancer și au fost recunoscute alături de numeroase alte leziuni pulmonare: bronșiectazii, fibroză etc. Astfel, Spain (1956) (citată de Nasta, Eskenasy și colab.) descrie 12 cazuri de fibroză pulmonară difuză care a determinat proliferări ale mucoasei, de tipul unei metaplazii epiteliale atipice, care au evoluat apoi spre un cancer bronho-pulmonar. Pentru toate aceste proliferări atipice ale epitelului bronhiolo-alveolar, Whitwell (1955) introduce termenul generic de „tumourlets”, care s-ar putea traduce liber prin „microtumori” și cărora li se atribuie un comportament mai aparte. Ele se dezvoltă din epitelul canalelor alveolare și cel alveolar, de cele mai multe ori pe fondul unui plămân patologic. Sînt multifocale, invadează spațiile limfatice perialveolare, dar nu metastazează decît excepțional spre ganglionii hilari (au fost descrise cîteva cazuri izolate care probabil erau deja cancer constituite). Proliferări ale epitelului alveolar și bronhiolar au fost semnalate și în faza de refacere după gripă, pneumonie cu celule gigante, infarcte pulmonare, antracoză, unde factorul etiologic comun al acestora a fost obstrucția bronhiolară. Rezultă astfel că asemenea „tumourlets” pot apărea ca urmare a leziunilor pulmonare cele mai variate sau în urma unor iritații determinate de un mare număr de factori.

Din punct de vedere histologic, aceste înmuguriri solide intraluminale îmbracă adesea aspectul de metaplazie pavimentoasă atipică. În majoritatea cazurilor creșterea tumorală se autolimitează și regresează. Natura lor benignă este atestată de lipsa lor de recidivă, evoluția îndelungată (peste 10 ani) și, în general, potențialul scăzut de malignizare. Pot fi perfect asimilate cu diferitele grade de CIN discutate la colul uterin.

La bronhiile mari, îndeosebi în zonele de bifurcare, mai expuse la injurii repetate și inflamații cronice (Macholda, 1970, citat de Straus), unde fluxul de aer este alterat, iar secreția de mucus mai redusă, cancerigenii inhalati se pot dizolva sau absorbi, devenind deosebit de activi. Ca urmare, epitelul bronșic răspunde inițial printr-o proliferare intensă de celule caliciforme muco-secre-

tante (pe seama celulelor de rezervă?), pentru ca apoi, treptat, epiteliul cilindric să fie înlocuit de un epiteliu pavimentos metaplastic, ordonat. Persistența stimulilor cancerigeni duce la apariția unor atipii și dezordonarea stratificării celulare, începînd de la bază spre suprafață. În continuare, se trece prin toate fazele succesive ale unei neoplazii intraepiteliale, iar după 10—20 de ani are loc spargerea membranei bazale și apariția unui cancer invaziv.

Fibroza pulmonară progresivă, hipovascularizația și în general hipoxia locală constituie factori favorizanți ai proceselor descrise anterior. Nasta, Eskenasy și colab. atrag atenția asupra faptului că după vîrsta de 40 de ani, rareori se mai întîlnesc plămîni indemni; bolile comune ale aparatului respirator, atît de frecvente la toate vîrstele, creează un teren favorabil acțiunii unor carcinogeni din mediul ambiant, care determină apariția unor leziuni cronice multifocale, localizate, de tipul metaplaziei pavimentoase. Cînd această metaplazie, ca urmare a persistenței unei acțiuni iritative locale devine atipică, se poate vorbi deja de o stare precanceroasă.

Evident, secvența metaplazie pavimentoasă atipică (imatură) → cancer pavimentos nu este obligatorie. De fapt, transformarea unui epiteliu metaplastic într-unul neoplastic invaziv a fost rareori surprinsă în arborele bronșic. Ashley (1978) este de părere, din acest motiv, că metaplazia pavimentoasă nu poate fi considerată ca o stare precanceroasă, atît timp cît ea este întîlnită în numeroase alte boli cronice pulmonare care nu marchează o tendință crescută la transformare în cancer. În schimb, Watson și Berg (1972) arată că metaplazia pavimentoasă este prezentă în 80% din cancerele bronho-pulmonare și că acestea se dezvoltă din focare de metaplazie. Alți autori semnalează de asemenea prevalența ridicată a metaplaziei pavimentoase în cancerul bronho-pulmonar: Black și Ackerman (1952), Valentine (1957) (citați de Spencer) semnalează o frecvență de 88,3%, respectiv de 61,9%.

Datele cele mai concludente în această privință au fost aduse de studiile privind modificările în structura histologică a mucoasei traheo-bronșice la fumători și nefumători, cu sau fără prezența unui cancer. Rezultatele acestor studii au arătat că hiperplazia celulelor bazale cu atipii celulare și neregularități ale stratificării, metaplazia pavimentoasă atipică și neoplazia intraepitelială sînt mult mai frecvente la fumători decît la nefumători și reprezintă probabil stadii succesive în dezvoltarea cancerului pavimentos, a celui nediferențiat și a celui cu celule mici (plecînd de la celulele de rezervă). *Faza de neoplazie intraepitelială de gradul III* (displazie severă sau CIE) reprezintă, potrivit acestor studii, o leziune veritabil precanceroasă. Auerbach și colab. (1962) (citați de Spencer) afirmă că la fumătorii activi, modificările epiteliale de tipul celor menționate anterior sînt prezente într-o proporție de 93,2%, dar la foștii fumători (care au întrerupt fumatul de cel puțin 5 ani) acestea sînt prezente la numai 6,0%, deci apropiat de situația întîlnită la nefumători (1,2%) ceea ce demonstrează că modificările epiteliului bronșic sînt reversibile o dată cu încetarea stimulului nociv.

În comparație cu CIE de la colul uterin, carcinomul intraepitelial bronșic pare pentru unii autori o leziune mai stabilă, mai ales în condițiile persistenței stimulilor carcinogeni (de exemplu fumatul), care evoluează cu mare probabilitate spre un cancer invaziv. Mason și Iordan (1969) au descris primii un CIE cu microinvazie în epiteliul bronșic, demonstrînd realitatea acestei evoluții.

În concluzie, apariția CIE și a precursorilor acestuia în arborele bronșic la marii fumători și mai ales în asociație cu un cancer bronho-pulmonar sînt

argumente pentru ideea că neoplasmul bronho-pulmonar este realmente precedat de o stare precanceroasă, leziune reversibilă atunci când factorii iritativi care au indus-o și-au încetat acțiunea, ceea ce oferă o bază logică pentru o profilaxie primară.

30.2.3.

Precancerul gastric

Problema stărilor precanceroase ale cancerului gastric este încă foarte controversată. Pînă la urmă au rămas să-și dispute acest atribut polipoza gastrică, gastrita cronică (mai ales forma ei atrofică) și ulcerul gastric.

— *Polipoza gastrică*, ca precancer al neoplaziei gastrice are o incidență foarte diferită din cauza variabilității definiției „cancerizării” și a numărului de cazuri analizate. Yamagata și Hisamichi (1979) descriu trei forme de polipi:

- polipi hiperplastici (adenomatoși) care au dat o proporție de malignizare de 2,1% (pe o altă serie de 974 cazuri, urmărită de aceiași autori între 6 luni și 11 ani, nu a survenit nici o malignizare);

- *polipoza gastrică difuză* nu a dat o proporție mai mare de 1—2% malignizări;

- *metaplazia pavimentoasă atipică, forma polipoidă* a dat proporția cea mai mare de malignizări: 13%.

Atunci cînd nu s-a făcut nici o distincție între diferitele forme anatomo-clinice ale polipozei gastrice, s-au dat proporții ale cancerizării de 5—16%. Autori, ca Boyd (1957), Mosley (1960) și Baensch, consideră această posibilitate mult mai rară, dar Carey și Niemetz consideră polipoza gastrică ca o veritabilă stare precanceroasă.

Lucrările japoneze mai recente (Sano, 1968; Nakano și colab., 1975) (citați de Yamagata, 1979) consideră că riscul de malignizare a unui polip este cu atît mai mare, cu cît diametrul lui depășește 2 cm și polipii sînt mai numeroși.

— *Ulcerul cronic gastric*. Conceptul de „cancerizare” a unui ulcer aparține lui Hauser (1883). Unii autori semnalează în deceniile următoare proporții surprinzător de ridicate pentru această eventualitate între 16,6% și 33,3%. În 1940 cu Mallory, apoi în 1944 cu Palmer și mai ales în ultimul timp, se reactualizează conceptul de „ciclu malign”, conform căruia, asemenea ulcerului benign, forma ulcerată a cancerului trece prin cicluri succesive de regresie, vindecare, recidivă. Această concepție a modificat total rata admisă a „malignizării” ulcerului. Marshall (1957), Ackerman (1961) neagă peste tot posibilitatea cancerizării ulcerului, iar majoritatea autorilor o consideră foarte rară. Astfel, la un număr de 1 286 de ulcere gastrice (cu 233 de rezecții), folosind criteriul de malignizare — mai larg — al lui Muto și Maki, Yamagata (1979) găsește o proporție de 7,2% ulcere cancerizate, dar pe baza criteriului mai strict, al lui Hauser, de numai 2,26%. Pe o altă serie, mai mare (2 180 de ulcere gastrice), același autor găsește o proporție și mai mică, de 2,06%.

Riscul scăzut de cancerizare a unui ulcer și mai ales criteriile de diagnostic (retrospectiv) ale unei asemenea posibilități, care sînt atît de relative, fac să nu se poată atribui ulcerului gastric atributul de stare precanceroasă.

— *Gastrita cronică*. Primul care semnalează secvența gastrită cronică → cancer este Konjetzny (1938). Lucrări de cancer experimental (Snell și colab.,

1969) au arătat că la acțiunea stimulului cancerigen prima reacție este atrofia mucoasei, după care se constituie o hiperplazie atipică și apoi transformarea malignă. Autorii moderni sînt însă foarte circumspecți în a eticheta o gastrită cronică drept stare precanceroasă, atîta timp cît în epiteliul gastric nu au apărut proliferări celulare atipice. Astfel, Guiss și Stewart (citați de Ashley) găsesc că o gastrită cronică atrofică moderată apare cu o localizare predilectă în regiunea pilorică la subiecții necanceroși, în timp ce în cancerul gastric atrofia este generalizată la întreaga mucoasă, sau gastrita poate lipsi complet. În schimb, cancerul gastric poate să genereze sau să agraveze o gastrită.

Există însă cîteva forme speciale de gastrită care se constituie cu o mai mare frecvență, ca leziuni precursorare cancerului. Astfel, *boala Ménétrier* (1888), o hiperplazie a celulelor muco-secretante cu formare de chisturi mucoase, difuză sau localizată, a fost prezentă în antecedentele cancerului gastric, conform unei reviste a literaturii (Chusid) în 8% din cazuri; însuși Ménétrier a descris această boală ca o precanceroză. Puținele studii prospective, precum și aspectul multicentric al cancerului care se constată în asociere cu această boală, pledează pentru caracterul ei de stare precanceroasă. Fasel și colab., Morson, 1955 (citați de Ashley) susțin că *metaplazia de „tip intestinal“* care poate să însoțească o gastrită atrofică este de fapt o stare precanceroasă. Acești autori consideră că 30% din cancerele gastrice se dezvoltă în zone de metaplazie pavimentoasă, idee susținută mai recent de Ming (1967) și Bernades (1975). Au fost aduse și dovezi histochemice în sprijinul acestei corelații, potrivit cărora în ambele entități activitatea aminopeptidazei este crescută (Planteidt și Willichagen — citați de Ashley, 1978).

O altă entitate morbidă însoțită de gastrita cronică, *anemia pernicioasă*, a fost relativ frecvent întâlnită în antecedentele sau în asociere cu un cancer gastric (Kaplan și Rigler, 1945 — pînă la 10%). O incidență crescută a cancerului gastric se constată și la rudele subiecților cu anemie pernicioasă (mecanism genetic?) (Mosbach, 1960; Siurala și colab., 1966) (citați de Ashley 1978). Studii citologice din conținutul gastric în anemia pernicioasă au evidențiat celule anormale simulînd pe cele din cancerul gastric (Rubin, 1953). Dacă însă gastrita atrofică care însoțește o anemie pernicioasă poate fi considerată ca o stare precanceroasă, este încă subiect de controversă, chiar dacă în boala Biermer riscul unui cancer gastric este între 2 și 20 de ori mai mare decît la populația generală (Vitaux, Le Quintrec, 1978).

Mai amintim și părerea că *gastrita hipertrofică* este urmată, (Olearchyk, 1978), de un cancer gastric între 6,2—13,5% din cazuri, iar forma ei gigantă în 9,10% din cazuri, ceea ce i-ar conferi și acesteia statut de boală precanceroasă.

În concluzie, este greu să se afirme atributul de stare precanceroasă pentru numeroasele entități descrise și care s-au întâlnit în antecedentele sau concomitent cu un cancer gastric în procente atît de variabile. Cum frecvența lor — ne referim la anumite forme de gastrite și polipoză gastrică — a oscilat cu diferiți autori între 10 și 20% în antecedentele cancerului gastric, considerăm că acestea ar putea fi luate în considerare drept leziuni precursorare ale malignității gastrice, dar că studii prospective pe serii mari de cazuri mai sînt încă necesare pentru a afirma cu certitudine secvența precancer → cancer gastric.

Precancerul recto-colic

Din bolile recto-colice premergătoare cancerului, care și-au câștigat statutul de stări precanceroase, amintim polipoza recto-colică și recto-colita ulcero-hemoragică.

Anatomo-patologic *polipii recto-colici* pot fi hiperplazici, adenomatoși, adenoame vilozice și polipi viloz-glandulari. Din aceștia, *polipii adenomatoși* au a reputație sinistă de stare precanceroasă, contribuind în mod semnificativ la incidența cancerului colo-rectal (Dukes, 1925—26; DeMuth, 1952; Dockerty, 1958; Helwig, 1959; Buchus și colab., Sato și colab., 1976; Brahme și colab., 1976; Enker și colab., 1978 etc.). Prima descriere a transformării maligne a unor polipi recto-colici aparține lui Smith, Harrison și Cripps (1887), care au semnalat că din 6 membri ai unei familii cu polipoză 3 au decedat printr-un cancer înainte de a fi împlinit 27 de ani. De fapt, există câteva observații care atestă relația patogenică strânsă dintre polipoză și cancer:

— distribuția topografică comună: frecvența mai mare la colonul sigmoid și rect;

— asocierea celor două leziuni, care pentru unii autori (Culp și colab., 1966; Shepherd și Jones, 1971; Harra, 1973) poate să ajungă până la 30% (pe material autptic). În cancere multiple, concomitente sau succesive, asocierea cu polipii adenomatoși este de două ori mai frecventă decât în cancerele solitare (Bachus și colab., 1961). Pentru Koppel (1962) prezența polipilor crește de 3 ori riscul de cancer în raport cu o populație fără polipoză. Distribuția geografică a polipozei și a cancerului sînt asemănătoare; de exemplu populația Bantu din Africa de Sud are o incidență scăzută a polipozei, precum și a cancerului;

— creșterea incidenței polipilor adenomatoși și a cancerului colo-rectal cu vîrsta se face paralel, dar cu un decalaj de aproximativ 10 ani, ceea ce indică o corelație secvențială;

— uneori, în regiunea polipilor adenomatoși se observă, alături de un focar neoplazic invaziv net, zone unde aspectul histologic este de cancer invaziv incipient, sugerînd malignizarea polipului adenomatos;

— studii privitoare la carcinogeneza colică arată că în dezvoltarea cancerului colo-rectal au loc la început proliferări epiteliale foarte asemănătoare polipilor adenomatoși (Morson, 1962), iar Fenoglio și Lane (1974) (citați de Ashley) arată că arii de CIE apar mult mai frecvent în zona polipilor adenomatoși decât pe mucoasa normală.

Un alt aspect semnalat mai ales în ultimul timp este faptul că frecvența cancerizării polipilor adenomatoși depinde și de *dimensiunile* acestora; astfel, Morson (1974) constată că polipii adenomatoși cu diametru peste 2 cm se malignizează cu o frecvență care depășește cu 50% rata malignizării polipilor cu un diametru de maximum 1 cm.

Alte studii (Nakagawara și Miyazaki, 1974) au constatat că frecvența malignizării polipilor adenomatoși depinde și de *sediul* lor: rata malignizării este de 11,1% pentru colon, de 18,3% pentru rect, global de 15,5%. În ultimii ani, cînd s-a ajuns la un diagnostic precoce prin introducerea fibroscopiei ca metodă de investigație de rutină, rata malignizării polipilor a fost apreciată la 32%.

Adenoamele vilozice (tumorile vilozice solitare) au o rată de malignizare încă și mai ridicată (Ewing, 1950; Wheat și Ackerman, 1958; Bigelow și Winkelman, 1964). Horn (1971) de exemplu, găsește o frecvență a malignizării între 10—55%. Potrivit datelor Spitalului St. Marc din Londra, potențialul de malignizare al polipilor adenomatoși este de 50%, iar cel al adenoamelor vilozice de 40%. Alți autori (Bacon și colab., 1954) arată că în momentul descoperirii lor adenoamele vilozice conțin într-o proporție ridicată (până la 17%) zone de carcinom intraepitelial. Un alt argument în favoarea considerării tumorilor vilozice drept stări precanceroase este faptul că asocierea lor cu un cancer de colon (într-o altă regiune topografică) se întâlnește cu o frecvență ridicată, între 7 și 20% (Southwood, 1962), ceea ce ar sugera o strânsă corelație etiopatogenică.

Pentru Appel (1977) *polipii vilo-glandulari* au, la fel, un risc ridicat de malignitate, doar că frecvența acestor polipi este mult mai redusă decât a celorlalte forme de polipi.

Există și unele voci, dispartate, care neagă transformarea malignă a polipilor recto-colici. Astfel, Krickstein și colab. (1962), cercetînd 60 de carcinoame dezvoltate pe un polip, ajung la concluzia că nu polipii s-au transformat într-un cancer, ci — după cum susțin Potet și colab. (1962) — polipii se dezvoltă de la început sub o formă benignă sau una malignă.

Un alt grup de boli luate în discuție ca stări precanceroase au fost unele *colite parazitare sau infecțioase*.

Tolot și Prost (1976) descriu cancere recto-colice apărute la 10—15 ani după o schistosomiază sau lambliază. Din colitele infecțioase, cel mai frecvent incriminată ca o stare precanceroasă este *recto-colita ulcero-hemoragică*. Pentru Bergen (1928), incidența malignizării este de 30 de ori mai mare decât la populația generală fără boală. De atunci s-au acumulat numeroase observații, iar studiul lui Yadley (1974) (citât de Tolot și Prost) apreciază riscul de cancerizare în recto-colita ulcero-hemoragică între 8 și 30 de ori, în raport cu populația generală. Factorii de risc cresc sînt extinderea leziunilor, vîrsta tînră la debutul bolii și durata evoluției. Astfel, pentru Morgan (1978) riscul de cancerizare a recto-colitei este de 30 de ori mai mare decât la populația generală, iar pentru rectul păstrat după o colectomie pentru recto-colită riscul de cancerizare crește pînă la de 60 de ori. Durata evoluției este, la fel, foarte importantă: DeVroede (1971) (citât de Tolot) găsește o rată de cancerizare de 30% la 10 ani și de 33% după 25 ani, cînd recto-colitele au fost totale.

Pentru Counsell și Dukes (citați de Tolot) cancerele recto-colice apărute pe fondul unei recto-colite ulcero-hemoragice au unele particularități: topografia predilectă este rectul și sigmoidul; de obicei apar tumori multiple și se manifestă cu semne inflamatorii, făcînd dificilă interpretarea histopatologică. Prognosticul cancerelor apărute pe fondul unei recto-colite hemoragice este de asemenea mult mai rău: pentru Cook și Göligher (citați de Tolot) supraviețuirea la 5 ani a fost de numai 20%, iar pentru Hulton (1972) de 25%.

A mai fost incriminată ca stare precanceroasă, insuficient dovedită însă, *boala Crohn*. Weedon (1973) de la Clinica Mayo afirmă că incidența cancerului recto-colic după boala Crohn a fost de 20 de ori mai mare decât la populația generală.

Precancerul sînului

Existența unor stări precanceroase pentru cancerul mamar a constituit o problemă mereu controversată în literatură, datorită printre altele faptului că entitatea care a fost mai des incriminată ca stare precanceroasă, *hiperplazia chistică* (boala chistică Réclus, fibroadenoza) are o natură extrem de complexă și o multitudine de variante histo-patologice. Este foarte greu să se decidă care anume din acestea au într-adevăr un potențial precanceros semnificativ. Se pare că *hiperplazia epitelială intraductală atipică* este principala leziune precanceroasă a sînului (Davis și colab., 1964; Kiaer, Kern și Brooks, 1969; Black și colab., 1972, toți citați de Ashley, 1978). Astfel Kiaer a constatat că neoplasmul mamar se dezvoltă în 45% din cazuri, cînd aspectul dominant al precancerozei este hiperplazia epitelială solidă și numai în 3% cînd tabloul histopatologic este dominat de adenoza. Mai important încă este gradul de atipie celulară (Kern și Brooks, 1969). O remarcabilă observație în acest sens este cazul prezentat de Gădăleanu (1981).

Interesante sînt lucrările care au urmărit evoluția acestor leziuni. S-a constatat mai întîi că nu toate hiperplaziile epiteliale (chiar și cele atipice) evoluează invariabil spre un cancer; multe involuează. Cele ferm constituite, mai ales cînd cuprind mai multe canalicule sau ducte și acini, ajung la formarea unei pelicule epiteliale multistratificate, care umple complet lumenul ductal (de obicei dilatat), formînd o structură tisulară solidă cu numeroase atipii care evoluează de obicei spre un carcinom intraductal. Culler (1961) apreciază că la aproape 1,5 din cancerele mamare modul de cancerizare este cel menționat anterior. Un proces similar se petrece în lobulul mamar, în cadrul așa-zisei neoplazii lobulare in situ, care poate fi asimilată cu o stare precanceroasă a cancerului lobular invaziv.

Ca și în cazul altor stări precanceroase, în afara dovezii histogenetice care urmărește stadiile succesive ale procesului cancerizării de la leziunea precanceroasă pînă la neoplasmul invaziv constituit, unul din principalele argumente este *concomitența* leziunilor incriminate cu cancerul (Foote și Stewart 1945; Kiaer, 1954; Bonser și colab., 1961; Cutler, 1961; Dawson, Lewison, 1971 ș.a. toți citați de Ashley). Concluziile diferiților autori sînt contradictorii.

Se acceptă mai întîi că hiperplazia chistică este o boală foarte comună, adesea clinic ocultă și astfel este greu să se stabilească cu exactitate prevalența ei, deci studiile care se bazează pe frecvența ei și frecvența cancerului sînt prin definiție inexacte. Astfel, Frantz și colab. (1951) (citată de Ashley) pe cazuri clinice cu sîni sănătoși au descoperit la necropsic în 19% din observații, macrochisturi și în 28% hiperplazie chistică. Kiaer (1954), Davis și colab. (1964) găsesc că prevalența mastozei chistice este chiar mai mare, pînă la 33%. Pe de altă parte Davis și colab. constată aceeași prevalență a mastozei și în caz de cancer mamar, ceea ce de asemenea ar infirma ipoteza hiperplaziei chistice ca precursor al cancerului. Un alt grup de cercetări efectuate pe mari grupe de populație constată bunăoară o prevalență dublă a hiperplaziei chistice la unele populații de culoare din Africa, în raport cu europenele, dar prevalența cancerului este inversă, ceea ce de asemenea ar infirma ideea unei relații cauzale între hiperplazie și cancer.

În schimb Silverberg și colab. (1972) (citată de Ashley) găsesc că hiperplazia chistică nu este mai frecventă la populația cu cancer decît la populația

generală, dar că prognosticul neoplaziilor apărute (ipotetic) pe fondul unei hiperplazii este mai bun.

În opoziție cu aceste cercetări, numeroși autori au semnalat o incidență mult mai mare a hiperplaziei chistice în prezența unui cancer mamar decât în lipsa acestuia (60—80%) (Foote și Stewart, 1945; Kiaer, 1954; Gallager, 1969 ș.a.).

Concluzia majorității studiilor din ultimele decenii consideră că riscul dezvoltării unui cancer este de 3 ori mai mare în prezența unei hiperplazii chistice, decât cifrele anticipate la populația generală fără această boală, deci aceasta poate fi considerată ca un precancer, mai ales atunci când îmbracă o alură atipică fiind însoțită de macrochisturi și de o proliferare papilomatoasă intrachistică.

Sub masca unei mastoze, mai ales forma ei tumorală se poate ascunde un cancer mamar și chiar dacă filiația mastoză → cancer mai rămîne de dovedit, asocierea acestor entități este suficient de frecventă pentru a ține în mod serios seama de ea.

O altă entitate luată în discuție ca boală precanceroasă este *papilomul intraductal*. Majoritatea autorilor însă neagă acest atribut (Ackerman, 1957; Handley, 1964; Haagensen, 1976, toți citați de Ashley). Au fost descrise însă cîteva cazuri (Gatchell, 1954, citat de Ashley) care au prezentat treptele intermediare histologice dintre papilomul intraductal și un cancer, ceea ce l-a determinat pe Cutler să reconsidere problema și să introducă și această entitate printre stările precanceroase ale neoplasmului mamar, chiar dacă potențialul ei de malignizare este destul de mic.

30.2.5.

Precancerul adenocarcinomului de endometru

Localizarea cancerului la endometru, care în ultimul timp a egalat incidența cancerului colului uterin, a suscitat numeroase cercetări, care au pus în lumină rolul hiperestrogeniei (endogene) sau al aportului crescut de estrogeni (exogeni) în geneza adenocarcinomului de corp uterin (Ziel și colab., 1975; Smith și colab., 1975; Jick și colab., 1979; Obrink și colab., 1979 ș.a.). Totodată au fost puse în evidență treptele intermediare care apar în procesul carcinogenetic, din care *hiperplazia adenomatoasă*, cu potențialul ei ridicat de cancerizare, reprezintă o veritabilă stare precanceroasă. Atît datele de histochimie, cît și cele genetice (cito-fotometrice) o apropie mai mult de hiperplazia glandulo-chistică, dar transformarea ei malignă survine într-o proporție semnificativă a cazurilor.

Etapa următoare în procesul cancerizării, *carcinomul in situ al endometrului* este o leziune extrem de controversată. De obicei, într-un focar de hiperplazie adenomatoasă apare la un moment dat o creștere anarhică epitelială, cu pierderea structurii glandulare dar fără să fie depășită membrana bazală. Citogenetic asistăm la o aneuploidie netă, citochimic la o scădere a ARN, a glicogenului și la o creștere a fosfatazelor acide, toate stigmatе ale malignității. *Carcinomul in situ* al endometrului este considerat de majoritatea autorilor moderni nu ca un precursor al cancerului invaziv, cu un potențial mai mult sau mai puțin ridicat de malignizare, ci ca un *cancer invaziv precoce*, dată fiind rata deloc neglijabilă de recidive și metastaze (vezi conceptul vechilor

autori germani: „Kein Karzinom aber besser heraus“ (Nu este un cancer, dar mai bine să fie extirpat).

Unul din argumentele principale privind hiperplazia glandulo-chistică și mai ales forma ei adenomatoasă, ca stări precanceroase ale adenocarcinomului de endometru este creșterea incidenței acestora în paralel cu a cancerului, sub acțiunea aportului de estrogeni exogeni. Astfel, într-un studiu tip bolnav/martore, Jick și colab. (1979) au constatat la femeile în postmenopauză tratate cu estrogeni de sinteză o creștere de 6 ori a riscului de cancer de endometru și creșterea în paralel a frecvenței hiperplaziei de endometru, iar dacă durata tratamentului cu estrogeni a depășit 5 ani, riscul a crescut de 15 ori.

Mai recent, s-a semnalat o creștere semnificativă a incidenței hiperplaziei adenomatoase și a cancerului de endometru la femeile tinere care folosesc inhibitori ai ovulației pe bază de estrogeni (Lyon, 1975; Silverberg și colab., 1975, 1977; Cohen și Deppe, 1977, toți citați de Dallebach-Hellweg, 1981).

Prezentarea unor leziuni precanceroase în alte localizări neoplazice ar putea fi continuată. Considerăm că cele arătate sînt suficiente pentru a conchide că noțiunea de precancer este o realitate, avînd un substrat morfologic mai mult sau mai puțin bine conturat. Pe măsura adîncirii studiilor de carcinogeneză, din ce în ce mai multe date se constituie ca argumente în favoarea acestei noțiuni.

30.3.

Clinica stărilor precanceroase

Leziunea precanceroasă este doar una din etapele histologice succesive în procesul cancerizării, de la care probabilitatea evoluției spre un cancer invaziv este suficient de mare pentru a-i conferi acest statut aparte. Aceasta ar fi situația dacă ne-am baza exclusiv pe aspectele morfologice prezentate în capitolul anterior. Precancerul își demonstrează adevărata lui importanță numai în măsura în care reprezintă și o *entitate clinică*, în stare să fie depistată prin mijloace clinice și paraclinice uzuale și tratată eficient, astfel încît să se realizeze o adevărată profilaxie a cancerului. De fapt, în sensul cel mai larg al cuvîntului, *noțiunea de precancer înseamnă în ultima analiză însăși posibilitatea prevenirii cancerului*. Altfel spus, dacă nu am accepta noțiunea de precancer, ideea de profilaxie a cancerului s-ar goli de conținut, nu ar mai avea nici un sens. Victor Babeș aprecia în mod magistral, într-o etapă a dezvoltării medicinei cînd despre profilaxie se știa foarte puțin, iar în practică se aplica și mai puțin, că „în prevenirea cancerului tocmai stările precanceroase trebuie cunoscute, depistate și combătute“.

În felul acesta, dacă problemele de morfologie a stărilor precanceroase reprezintă în mare măsură cîmpul de luptă al disputelor teoretice pentru acceptarea sau negarea noțiunii, pentru practică interesează în primul rînd *aspectele clinice*.

Nu este în intenția noastră să prezentăm pe larg semnele clinice și modalitățile de diagnostic al stărilor precanceroase acceptate de majoritatea autorilor moderni. Vom prezenta totuși, absolut orientativ la sfîrșitul acestui subcapitol o listă a entităților morbide care trebuie să stea în atenția noastră ca stări precanceroase. Vom da în schimb o mai mare extindere conceptului

precancer-profilaxie, care, socotim noi, reprezintă aspectul major al acestei probleme.

Exemplele cele mai numeroase în această privință sînt oferite tot din domeniul localizărilor neoplazice superficiale, accesibile unui examen clinic direct cum ar fi: cancerul cutanat, cancerul colului uterin, cancerul mamar, iar din acestea materialul faptic cel mai abundent s-a acumulat în legătură cu colul uterin.

30.3.1.

Colul uterin

Acțiunile profilactice pentru depistarea stărilor precanceroase și a neoplaziilor incipiente ale colului uterin* au cîștigat în amploare abia după al doilea război mondial. La început metodologia s-a bazat exclusiv pe *examenul clinic*, cu ajutorul căruia s-a realizat mai întîi o preselecție a cazurilor cu o leziune vizibilă cu ochiul liber pe colul uterin. Aceste bolnave au fost apoi supuse unor examinări paraclinice (colposcopie, testul cu Lugol etc.), iar atunci cînd s-a apreciat că există leziuni de interes oncologic, deci suspecte (precancer și cancer) s-a efectuat o biopsie. În felul acesta, s-a ajuns prin mijloace relativ simple la depistarea a 1—2‰ cancere ale colului uterin (depășind frecvența anticipată de 1‰ la o populație asimptomatică, conform cunoscutului aforism enunțat la început de secol de Magendie). Ceea ce este însă mult mai important, „în plasa” acestor acțiuni profilactice au căzut nenumărate leziuni premergătoare cancerului, displazii de toate gradele, care tratate în mod corect (diatermo-coagulări, conizații-amputații, histerectomii totale etc.) au dus la o excelentă profilaxie a cancerului. Literatura deceniilor 6—7 abundă de studii privind asemenea acțiuni profilactice de masă, mai ales în țările socialiste, unde medicina are prin excelență o importantă amprentă profilactică: Nudolskaia, 1947; Lurie, 1948, 1949; Serebrov 1949; Petrov, 1949, 1950; Larionov, 1951; Scurtu-Filipescu, 1961.

Pentru Petrov noțiunea de precancer dobîndește o precizare clinic-organizatorică, ce fundamentează întreaga profilaxie a cancerului în URSS: dacă unele distrofii cronice locale tratate corect nu se vindecă sau nu regresează în 30 de zile, ele trebuie considerate ca precancere sau cancere incipiente și tratate ca atare (prin mijloace chirurgicale).

În țara noastră a existat de asemenea o „perioadă de agitație” în legătură cu acțiunile profilactice de masă în domeniul cancerului sferei genitale feminine, mai ales în deceniul al 6-lea, în legătură și cu realizarea de către I.O.R. a primului colposcop românesc, într-un tiraj de masă (Costăchel și colab., 1960; Aburel, 1961; Cristea și colab., 1961; Alessandrescu și colab., 1962; Savin și colab., 1957, 1965, Munteanu, 1968 ș.a.).

O etapă oarecum mai avansată a acțiunilor profilactice pentru depistarea în masă a stărilor precanceroase și a cancerului colului uterin a așezat *examenul colposcopic* ca element pivot; acțiuni de acest tip au fost cu precădere preconizate în R. D. Germană (Eisen, 1955; Querg, Oehmisch, 1959; Erkrath, 1968 ș.a.), dar acestea au dezavantajul că sînt mult mai laborioase, cer în

* În literatură datele privitoare la acțiunile de depistare a cancerului și precancerului diferitelor localizări neoplazice sînt totdeauna prezentate împreună, cele 2 entități fiind inseparabile, una subînțelegînd pe cealaltă.

mod obligator participarea medicului de specialitate și, ca urmare, au o arie mult mai mică de cuprindere*. Pentru a se lărgi sfera de cuprindere a populației și pentru a nu obosi rețeaua de specialitate, în ultimii ani ai perioadei amintite (deceniile 6—7) s-a preconizat ca examinările profilactice colposcopice să fie efectuate exclusiv la femeile care se prezintă în mod spontan, pentru orice motiv, la un cabinet de specialitate, dar aceasta în mod obligator.

Un astfel de tip de depistare în masă a precancerului și cancerului incipient al colului uterin a fost preconizat de Aburel și Savin în 1969; într-o primă etapă se face la cabinetul de ginecologie o preselectie, folosindu-se examenul clinic și testul Schiller. Cazurile cu patologie cervicală ajung în etapa a II-a efectuată la cabinete de colposcopie (cu sau fără citologie exfoliativă), unde sînt diferențiate trei categorii de leziuni:

- de asanat (patologie benignă a colului uterin);
- de supravegheat (patologie de tip CIN gr. I);
- de practicat biopsie (toate leziunile de interes oncologic major: CIN gr. II, III, suspiciuni de cancer invaziv). Toate acestea intră în etapa a II-a de diagnostic, în condiții de internare.

O adevărată revoluție în domeniul acțiunilor profilactice pentru depistarea în masă a cancerului colului uterin și a stărilor care îl premere avea să rezulte din introducerea în practica de rutină a examenului citologic. Nu este cazul aici să se facă apologia valorii citologiei pentru descoperirea leziunilor precanceroase și a cancerelor incipiente ale colului uterin. Există în legătură cu aceasta o literatură de-a dreptul impresionantă (vezi lucrările: Chiricuță, Munteanu, Rîșcă, Simu — Cancerul colului uterin — Ed. Dacia, Cluj-Napoca, 1972, pp. 92—166; Chiricuță, Munteanu, Bolba — Metodologia depistării în masă a cancerului colului uterin, în: Enciclopedia Oncol. vol. I, Cancerul colului uterin, Ed. Inst. Onc. Cluj-Napoca, 1976 pp. 71—93, Ibid: Îndreptar de citologie pentru diagnosticul precoce al cancerului colului uterin, — Ed. Medicală București, 1978, pp. 15—33).

Considerăm însă util să arătăm cîteva aspecte.

a) Examenul citologic are o acuratețe superioară examenului clinic și/sau colposcopic, avînd în multe cazuri un indice de eroare sub 5—8% și, în plus, permite chiar din prima fază a acțiunii de screening un diagnostic histopatologic anticipat, pe cel puțin 3—4 grade lezionale: leziune benignă, CIN gr. I—II (displazie ușoară sau moderată), CIN gr. III (displazie agravată sau CIE) și cancer invaziv. El realizează deci mai direct și mai exact depistarea stărilor precanceroase și a cancerului colului uterin, permițînd trecerea mai rapidă la finalizarea acțiunii.

Dacă examenul clinic ca metodă profilactică reușea să depisteze la 1 000 de femei asimptomatice examinate, 1—2 cancere, nu totdeauna incipiente (oricum în stadii „clinice”), examenul citologic a ridicat proporția cazurilor depistate la 5—6%, din care 3—4% sînt carcinoame preclinice (CIE și microcancere) și un număr mult mai mare de stări precanceroase (Christopherson semnalează 2,8% cancere invazive și 3,7% CIE la primul screening în provincia Jefferson, Statul Kentucky, S.U.A.) (1962).

b) Prin simplitatea și inouitatea lui, examenul citologic este larg acceptat de populația feminină, realizîndu-se arii de cuprindere care depășesc adesea

* În examinările profilactice clinice, etapa de masă, de preselectie este la îndemîna oricărui medic; s-a preconizat chiar să fie efectuată de personal sanitar mediu: asistente medicale, moașe, surori. Ele au o arie suficient de largă de cuprindere a populației.

75—80% din populația urmărită. Prin introducerea citologiei în acțiuni de masă s-au realizat pentru prima dată în anumite zone geografice adevărate acțiuni „totale”, cuprinzând milioane de femei asimptomatice. Cităm acțiunile din Columbia Britanică (Canada) (Raportul Walton), provinciile Alameda (Calif.) (Dunn — 1981) și Jefferson (Kentucky) (1962, 1977), ambele din S.U.A., zona orașelor Cardiff (1981) și Edinburg (1966), ambele din Marea Britanie, acțiunea din Leyden-Olanda (1978), districtul Maribo (Berget) (1979) și Frederiksborg (1977) din Danemarca, acțiunea Ostfold (Norvegia, 1971), acțiunea citologică din nord-vestul Transilvaniei (1976) și numeroase altele.

c) Numeroase „simplificări” menite să-i mărească eficiența și să-i reducă prețul de cost au făcut din examenul citologic un test ideal de screening, fără îndoială cea mai reușită achiziție în domeniul mijloacelor de depistare ale unor boli cu răspândire în masă. Amintim introducerea unor metode de *autoprelevare* (Davis, 1962; Chiricuță, Munteanu 1969) și de *prelucrare și „citire” automată* a frotiurilor citologice (Koenig și colab., 1968; Gusberg și colab., 1969; Tanaka și colab., 1977).

Asupra unor aspecte de organizare privind acțiunile profilactice citologice vom reveni mai departe.

30.3.2.

Sînul

O altă localizare neoplazică în care aspectele clinice sînt poate și mai importante decît au fost în cazul colului uterin este cea *mamară*.

Dacă în cazul colului uterin ponderea mijloacelor de depistare a precancerului și cancerului incipient a trecut treptat de la examenul clinic spre examene paraclinice și de laborator, pentru sîn examenul clinic rămîne obligatoriu în depistarea oricărei stări de boală (inclusiv entitățile acceptate ca stări precanceroase).

a) Din semnele clinice care atrag atenția asupra unei afecțiuni mamare de interes oncologic, secreția mamelonară și prezența unei tumori sînt cele pe care le constată de altfel și bolnava însăși. De aici una din consecințele practice privind depistarea, accentul care se pune pe metodele de *selfscreening*. Datele statistice arată că în 80—95% din cazuri (Strax, 1969), prezența unei tumori a sînului este depistată pentru prima dată în mod accidental de femeia însăși, fiind extrem de rare situațiile cînd este descoperită de medic în contextul examenului general. În această situație s-a născut ideea de a face din autodepistare nu o acțiune întîmplătoare, ci una conștientă, organizată în sensul de a învăța femeile să-și palpeze sînii periodic, sistematic, pentru a ajunge la depistarea unor boli mamare în faze clinice mult mai incipiente. Prin metoda autoexaminării ar trebui, teoretic ca de la media diametrului tumoral de aproximativ 5 cm, cît au bolnavele cînd se prezintă prima dată la medic (Haagensen, 1971) să se ajungă la 1—2 cm, mărime accesibilă palpării pentru orice femeie, cît de cît avizată asupra acestei investigații.

Rezultatele publicate pînă în prezent sînt contradictorii: Haagensen (1971) a constatat că intervalul de timp scurs de la depistarea unei tumori mamare pînă la prezentarea la medic a scăzut de la 7,5 luni (perioada 1943—1955) la 4,9 luni (perioada 1956—1967) numai prin eforturile de educație sanitară a populației și de propagandă în favoarea autoexaminării mamare. Gilmore, care a urmărit un timp comportamentul unui grup de femei față de această

metodă, constată cu amărăciune că în câțiva ani, numai foarte puține femei o mai practică cu oarecare regularitate, iar Thiessen (1971) arată că din cazurile lui numai 39% din leziunile autodepistate au fost descoperite de femei care practicau sistematic autoexaminarea.

b) O alternativă la această metodă este examinarea profilactică făcută de medic, cu alte cuvinte includerea sînilor în cadrul oricărei examinări generale la un cabinet medical (în spiritul „consultației oncologice sistematice obligatorii” preconizată de Inst. Oncologic București: Costăchel, Georgescu, Trestioreanu) sau examinarea clinică a sînilor în cadrul unor acțiuni de masă (Chamberlain, Holleb, Dodd, Strax, Shapiro ș.a.).

Un exemplu tipic al unei acțiuni de acest fel ne vine din Danemarca (districtul Storstrøms) (Bostofte), în cadrul căreia o examinare mamară a fost cuplată la un screening citologic cuprinzînd 18 577 de femei (mai mult de jumătate din acestea reexamineate după 2 ani) și care a dus la descoperirea a 126 (0,5%) leziuni mamare, din care numai 7 au avut un cancer (deci un indice de depistare foarte scăzut, de numai 0,4‰). Alte acțiuni de acest fel, citate de autor, au avut un indice de depistare între 1,5 și 8,3‰ pentru cancer și ceva mai ridicat pentru alte leziuni mamare, inclusiv stări precanceroase, multe însă pe populații preselecționate. Din aceste date autorii conchid că acțiunile de depistare a tumorilor mamare (se referă cu precădere la cancer) exclusiv prin examen clinic nu dau rezultatul scontat.

O modalitate care ar putea fi considerată un compromis între metodele menționate a fost elaborată și aplicată cu ani în urmă de colectivul Chiricuță, Munteanu (1970). Metoda constă în difuzarea unui „chestionar oncologic” conținînd 5 întrebări privind sfera mamară (care determină femeia la autoexaminarea atentă a sînilor) pe care pacienta îl predă o dată cu prezentarea în vederea recoltării secreției pentru un examen citologic în cadrul unei acțiuni de depistare. Femeile al căror răspuns poate suspecta o afecțiune în sfera mamară sînt apoi examinate de medic și, de la caz la caz, se practică o mamografie. Astfel, din 1 200 de femei chestionate, 91,6% au răspuns la chestionar și din acestea 3,4% au semnalat simptome în sfera mamară. La examinarea făcută de medic 6 au avut tumori mamare, toate dovedite benigne, unele cu potențial de malignizare (deci stări precanceroase).

O experiență interesantă este cea a unui grup de medici de la spitalul Szekszard (R. P. Ungară), care au folosit la fel un chestionar oncologic axat mai ales pe factorii de risc cunoscuți pentru cancerul mamar, interviuînd 4 480 de femei asimptomatice. Au preselecționat din acestea 14%, pe care le-au supus unei mamografii. La 53% din cele astfel examinate s-a constatat prezența unor leziuni mamare: la 41% s-au descoperit aspecte pledînd pentru o leziune benignă și la 6% pentru o leziune malignă. În final au fost depistate 3 cancere incipiente, 3 bolnave cu leziuni precanceroase evidente (proliferări atipice intraductale) și 29 de mastopatii benigne etc.

c) Mult mai multe speranțe au fost puse în metodele paraclinice (mamografia, teletermografia dinamică, termografia, ultrasonografia). Despre valoarea mamografiei în diagnosticul prezumtiv al leziunilor mamare nu este cazul să insistăm; ca metodă de depistare s-a dovedit la fel de utilă, deși experiența acumulată pînă în prezent este mult mai modestă decît în cazul colului uterin. Cităm spre exemplificare pe Strax, care se referă la

un program de depistare inițiat la New York în anul 1963 și care totalizează pînă în 1967, 20 211 femei examinate. Concluziile preliminare au fost următoarele:

- cancerul mamar poate fi depistat prin mamografie în medie cu 21 de luni mai devreme decît în mod obișnuit (studiul este un trial randomizat, martorele fiind femei nesupuse screening-ului);

- 65% din cancerele depistate se află într-un stadiu incipient (fără adenopatie axilară), față de numai 41% la martore;

- mamografia și examenul clinic nu pot fi separate în cadrul acțiunii de screening, ele întregindu-se reciproc;

- mamografia dă rezultate superioare la femeile în vîrstă de peste 50 de ani, cu sîni grăsoși și leziuni în jumătatea inferioară a mamelei; examenul clinic este mai eficace la femei sub 50 de ani, cu sîni mici, de tip glandular.

Aceeași acțiune, reevaluată la 14 ani de la debut (Shapiro, 1977) arată că bolnavele care au fost pozitive numai la mamografie au avut o supraviețuire după 8 ani de 86%, cele pozitive numai la examenul clinic au avut o supraviețuire de 68%, iar cele pozitive la ambele metode, de 59%, demonstrînd, dacă mai era necesar, eficacitatea mamografiei în descoperirea leziunilor incipiente ale sînului.

Făcînd o revistă a metodelor de screening în masă a leziunilor mamar, care se bazează pe 22 de serii de cazuri publicate între anii 1955 și 1975 și cuprinzînd peste 65 000 de femei asimptomatice, Dodd (1977) constată că mamografia a avut o rată de 12,8% rezultate fals negative, (la un lot de cancer din care 71% au fost clinic oculte). Numărul de boli premergătoare cancerului a fost foarte mare, din moment ce 4 051 leziuni benigne au fost suspectate mamografic de cancer. Celelalte metode, ca termografia, ultrasonografia, sînt mai inofensive, dar au o folosință limitată. Rezoluția spațială oferită de acestea nu este propice pentru un diagnostic precoce, avînd o rată de rezultate fals-negative mult prea mare în raport cu acuratețea, mediocră și ea. Ambele pot veni în discuție ca metode de screening în masă dar numai în asociere cu examenul clinic și mamografia.

S-au auzit voci care au incriminat efectul posibil nociv al mamografiilor, chiar în sensul inducerii unui cancer, mai ales cînd sînt repetate. Potrivit aprecierii Acad. Naț. de Științe a S.U.A. (1972), riscul de cancerizare este de 6 cazuri la 1 milion de femei/1 rad/1 an. Din nefericire, popularizarea fără discernămint a acestor date, a determinat un curent de opinie nefavorabil acestei metode, care a creat o falsă alarmă chiar printre femeile care ar beneficia cel mai mult de pe urma mamografiei, bolnavele simptomatice și cele din grupa de risc.

Din experiența pe plan mondial și a noastră personală reținem că folosirea de rutină a mamografiei, mai ales la femeile preselecționate prin examen clinic, a dus la o reconsiderare a întregii noastre atitudini privind patologia oncologică mamară, la o delimitare mai exactă a sferei leziunilor considerate ca stări precanceroase și în final la o scădere a mortalității prin cancer mamar (prin profilaxie primară și diagnostic mai precoce) atunci cînd a fost aplicată pe scară întinsă sau în acțiuni preventive.

Amintim faptul că și pentru stările precanceroase și cancerele incipiente ale altor localizări neoplazice au fost preconizate numeroase metode și au fost folosite cele mai variate mijloace, cu succese mai mult sau mai puțin remarcabile.

a) Astfel, pentru *cancerul pulmonar* și stările lui preneoplazice au fost preconizate examinări în masă de tipul radiomicrofoto (Gross și colab. — Cehoslovacia — 1968; Rău, Tomescu — România, 1968), cu ajutorul radiografiilor (Suzuki — Japonia) sau al examenului citologic din spută.

b) Pentru *cancerul și precancerul gastric* sînt preconizate, mai ales de autorii japonezi, gastrocamera (Sakita), examenul radiologic baritat (Shirakabe) sau mai ales fibroscopia.

c) Pentru *cancerul recto-colic*, testul hemocult, fibroscopia, examenul citologic etc.

În încheierea acestui subcapitol arătăm că ideea depistării în masă a cancerului și a stărilor patologice premergătoare, indiferent de localizare, a îmbrăcat mult mai multe forme metodologice și a utilizat mult mai multe mijloace decît au putut fi prezentate în această succintă trecere în revistă. Valoarea acestor metode este foarte diferită, de la localizare la localizare, iar mijloacele folosite pentru depistare au o acuratețe, de asemenea foarte diferită, ceea ce a făcut pe mulți autori să considere că asocierea mai multor mijloace de depistare, urmărind localizări multiple ale cancerului este neavenită (de exemplu examenul clinic pentru cancerul mamar asociat cu o recoltare citologică pentru cancerul colului uterin). Aceste aspecte țin însă mai mult de ceea ce se numește „filosofia” acțiunilor de screening, subiect al cărui loc nu este aici.

Ca o concluzie generală rămîne faptul că *aspectele clinice ale stărilor precanceroase*, care se suprapun în mare măsură cu cele ale cancerului (în-deosebi cel incipient) au deschis calea acțiunilor de depistare în masă, răspunzînd astfel dezideratului major de a realiza o profilaxie eficientă.

Pentru a veni în ajutorul clinicianului enumerăm în continuare (Costăchel, 1961, actualizat de noi) îmbolnăvirile care pot fi asimilate ca precancere. Pe măsura acumulării de noi date privind biologia tumorilor, evoluția lor naturală, aspectele morfologice, mijloacele de diagnostic și metodele de depistare, această enumerare este susceptibilă de ameliorări.

LISTA PRINCIPALELOR AFECȚIUNI PRECANCEROASE (COSTĂCHEL, 1961) (ADUS LA ZI CU TERMINOLOGIA ACTUALĂ)

Piele

- keratoza senilă
- cornul cutanat
- nevii pigmentari
- radiodermita

Mucoasa bucală

- leucoplazii ulcerate
- leucoplazii papilomatoase
- ulceratii de orice fel; rebele la tratament

Căile respiratorii

- polipii corzilor vocale
- tumorile benigne bronșice
- metaplaziile pavimentoase atipice

Stomac

- gastrita cronică atrofică (din anemia pernicioasă) sau hipertrofică
- polipoza gastrică

Rect-colon

- polipul adenomatos
- adenomul vilos
- recto-colita ulcero-hemoragică

Aparatul urinar

- leucoplazia vezicii
- polipoza vezicală
- metaplazia atipică, ca urmare a iritației prin coloranți de anilină

Stnul

- mastopatia chistică Reclus
- papilomul intraductal
- neoplazia lobulară *in situ*

Colul uterin

- CIN gradul III (displaziile severe)

Corpul uterin

- hiperplazia atipică
- hiperplazia adenomatoasă

Ovarul

- unele chisturi benigne
- endometrioza ovariană

30.4.**Precancerul din punct de vedere experimental**

Unele aspecte care s-ar încadra în acest capitol au fost amintite când a fost prezentat substratul morfologic al unor leziuni precanceroase. Se cuvin unele adăugiri și precizări.

Primele încercări de cancerizare experimentală a *colului uterin* și *corpului uterin* la animale care în mod spontan nu fac asemenea neoplazii (rozătoare, iepuri), aparțin deceniului 4 (Ilfeld, 1936). În 1941 Allen și Gardner au indus un cancer pavimentos al colului uterin la șoareci prin administrare îndelungată de estrogeni. Ulterior au fost obținute cancere epidermoide prin badijonări locale repetate cu cele mai variate substanțe cancerigene (benzpiren, metil-colantren etc.). Aceste experiențe au dat posibilitatea urmării dinamice a histogenezei cancerului cervical și au demonstrat trecerea de la epiteliul pavimentos normal peste cel displazic, cancerul intraepitelial, până la cel invaziv. Succesiunea leziunilor de gravitate crescândă, rata de malignizare, au reprodus convingător ceea ce se întâmplă în clinica umană, aducând încă un argument incontestabil favorabil ideii că neoplasmul nu se dezvoltă direct din epiteliul normal, că trece prin leziuni premergătoare, care se cancerizează cu o frecvență cu atât mai mare cu cât sînt mai avansate, iar durata de urmărire este mai mare. Cu alte cuvinte, cancerizarea experimentală demonstrează și ea realitatea noțiunii de precancer.

Foarte interesante în acest sens ni se par unele observații de anatomie comparată și experimentală privind *precancerul ovarian*. Încă din 1942

Stein și Allen au arătat că injectarea de estronă în capsula ovariană la șoricioaică determină stimularea proliferării epiteliale. La fel, la șobolănițe, epiteliul ovarian își îmbogățește brusc figurile mitotice în vecinătatea punctului de ovulație, deja la 24 de ore după ponta ovulară, sub acțiunea unui stimul proliferativ hormonal. O proliferare epitelială intensă, cu formare de cripte și papile apare la fel la șoricioaică după ponta ovulară. O'Shea (1960) a constatat la iepe că în fosele ovulatorii au loc intense procese proliferative cu formare de chisturi. În altă ordine de idei chisturile ovariene benigne au fost considerate adevărate stări precanceroase pentru tumorile ovariene de tip epitelial. Astfel, Lingeman (1974), Mitrokina (1976), Radislavljevic (1977), Genadry și colab. (1979) consideră că unele chisturi ovariene, mai ales cele de tip incluzional sau dezvoltate dintr-un focar de endometrioză, au potențial un risc crescut de malignizare. La aceste observații la animale și la om mai lipsea o verigă pentru a se reconstitui întregul proces patogenetic. Această verigă este observația că în timp ce la animale ovulația este mai adesea urmată de concepție, avînd un scop bine determinat, după care ovarul intră în repaus, la om ovulația este de cele mai multe ori nefinalizată, astfel încît ovarul nu beneficiază de nici un repaus ovulator (decît în perioada de graviditate și alăptare), avînd loc ceea ce se numește o „ovulație neîntreruptă”, cu tot cortegiul ei de stimulări proliferative repetate, care au loc în epiteliul ovarian (Fathala și Cassagrande și colab. — 1979). Acesta este motivul pentru care mamiferele studiate nu fac decît rareori neoplasme ovariene derivate din epiteliul germinativ, spre deosebire de om, la care tumorile ovariene de tip epitelial reprezintă 90% din neoplasmelor ovariene. Indirect, această sumă de observații plasează chistul ovarian benign, pe traseul procesului carcinogenetic, ca o stare precanceroasă a neoplasmelor ovariene de tip epitelial. Astfel, pentru Chiricuță (1981), conform unei situații întocmită după mai mulți autori, riscul de cancerizare al chisturilor ovariene benigne este de 30—50% pentru cele seroase, respectiv de 8—10% pentru cele pseudomucinoase.

În privința *precancerului pulmonar* am arătat că, urmare a unor iritații determinate de foarte mulți factori, pot să apară atît în epiteliul bronhiolar, cît și în cel alveolar, proliferări epiteliale uneori cu alură atipică, ce reprezintă o placă turnantă în procesul de cancerizare. Acest tip de proliferări solide intraluminală au fost reproduse și experimental, d: exemplu prin instilații intratraheale de acid azotic 1%, animalele fiind protejate de pneumonie prin antibiotice.

Despre rolul fumatului în geneza cancerului bronho-pulmonar nu este cazul să insistăm aici. Se cuvine să arătăm însă că foarte multe modele experimentale de carcinogeneză pulmonară (care au demonstrat indirect și stările patologice intermediare avînd statut de stări precanceroase) au folosit ca agenți cancerigeni fumul de tutun, gudroanele extrase din tutun, sau unele din cele 480 de substanțe cu acțiune cancerigenă descoperite în produsele de tutun. Astfel, menținerea unor animale de experiență (șoarece, șobolan) în atmosferă de fum de țigarete a determinat apariția de adenome și cancere bronho-pulmonare, iar la cîinii traheotomizați, folosindu-se un dispozitiv special de inspirație-expirație au fost induse papiloame și cancere bronho-pulmonare. Alți autori, folosind gudron tabagic în aplicare locală au indus de asemenea adenome și tumori maligne traheo-bronșice.

Șirul de exemple privind argumentele pe care patologia experimentală și cea comparată le pot aduce în favoarea conceptului de precancer ar putea fi continuat. Considerăm că cele câteva date prezentate sînt suficiente pentru a ilustra și acest aspect pe care îl poate îmbrăca noțiunea de stare precanceroasă.

30.5.

Precancerul, noțiune epidemiologică

Un domeniu al cercetării oncologice care a adus foarte multe elemente noi în înțelegerea și valorificarea noțiunii de precancer este *epidemiologia*.

Vor fi prezentate câteva exemple despre modul în care studiile de epidemiologie pot fundamenta teoretic această noțiune, folosind în acest scop tot colul uterin, unde materialul factual acumulat este pe departe cel mai bogat și mai temeinic analizat. Studiile de epidemiologie au reușit să demonstreze corelația CIN-cancer invaziv, poate chiar mai convingător decît s-a reușit acest lucru în cadrul cercetărilor prospective, pe cazuri izolate, pentru că în domeniul epidemiologiei fiind antrenate mase mari de populație, concluziile au girul semnificației statistice.

a) O primă categorie de observații din acest domeniu ține de studierea unor factori etiologici comuni, ai diverselor entități morbide care precedă cancerul și ai cancerului constituit. Fără îndoială, cel mai des incriminat factor etiologic este acțiunea virusului herpetic uman, de tip genital (VHS II). O bibliografie foarte numeroasă atestă faptul că prevalența infecției herpetice este proporțională cu gradul de gravitate a leziunii (în lanțul patogenetic neîntrerupt de la epiteliul normal la cel neoplazic) și totdeauna mult superioară oricărui martor sănătos (Josey și colab., 1968; Royston, Aurelian, 1970; Nahmias — 1973 ș.a.). De asemenea, aceste studii au arătat că incidența de vîrf a infecției herpetice precedă în medie cu 10 ani leziunile cervicale preinvazive (neoplazia cervicală intraepitelială, adică precancerul) și cu 20 de ani pe cele invazive, demonstrînd și pe această cale că durata evoluției spre malignitate a unei stări precanceroase cervicale este de aproximativ 10 ani.

b) Alte numeroase observații au izvorît din studiile cu privire la acțiunile de depistare a cancerului și a stărilor patologice care îl premerg, cu ajutorul examenului citologic. Cităm un model de asemenea studiu, care aparține Lornei Johnson și colab. (1968), care și-au propus să dovedească prin argumente epidemiologice dacă unele forme de displazie pot să fie un precursor al CIE, respectiv al cancerului invaziv. Plecînd de la constatări de ordin morfologic deplin dovedite și urmărind 11 340 de femei, clinic, citologic și bioptic (unde a fost cazul) pe o perioadă de 8 ani, autorii citați aduc următoarele argumente în sprijinul evoluției displaziei spre cancer și, implicit, al noțiunii de stare precanceroasă.

* Pentru aprofundarea acestor aspecte se pot consulta lucrările noastre: Cap. Epidemiologia-etologia cancerului colului uterin — Chiricuță, Munteanu, Rîcă, Simu, ed. Dacia 1972, pp. 15—42; Epidemiologia-etologia cancerului colului uterin — Munteanu S., din: Cancerul colului uterin, sub red. I. Chiricuță, ed. Inst. Onc. Cluj-Napoca, 1976, pp. 11—25; Poluarea sexuală și cancerul colului uterin — Munteanu S., Chiricuță I., în: Cancerul și mediul ambiant, sub red. Chiricuță I., Ed. IOCN-1980, pp. 175—190 etc.

— Incidența globală a anomaliilor epiteliale cervicale (displazii, CIE și cancer invaziv) este remarcabil de constantă, în jurul lui 11—12%, pentru fiecare din deceniile de vîrstă peste 20 de ani.

— Ponderea celor trei categorii de leziuni în cadrul fiecărei grupe de vîrstă, pledează pentru evoluția displaziilor spre cancer, deoarece la femeile în premenopauză (sub 40 de ani) se constată pentru fiecare deceniu o creștere progresivă a ponderii CIE (de la 19% la grupa de vîrstă 20—29 de ani, la 49,2% pentru grupa 30—39 de ani) și, concomitent, o descreștere a displaziilor de la 71,2 la 35,8%, sugerînd că la aceste vîrste tinere are loc progresiunea displaziei spre CIE.

După 40 de ani se constată o descreștere progresivă a ponderii CIE de la 49,2% la 8,4%, paralel cu creșterea ponderii cancerului invaziv de la 15% la 66,4%, ceea ce pledează pentru tendința evoluției CIE spre cancer invaziv.

— Incidența CIE în cadrul unei populații cu displazie este de 22 ori mai mare decît la o populație în prealabil testată ca avînd o citologie negativă (deci fără displazie).

— Se constată că la toate grupele de vîrstă, incidența displaziei (cazuri noi apărute) reprezintă peste 75% din anomaliile epiteliale cervicale. Prevalența displaziei (totalitatea cazurilor existente în cadrul unei populații date, la prima testare) este totdeauna mai mică de 75% pentru fiecare din grupele de vîrstă, cu excepția celei de 20—29 de ani, ceea ce înseamnă că la toate grupele de vîrstă răspunsul inițial la factorii carcinogenetici este displazia.

— Pe 141 de cazuri de displazie se constată regresia leziunii în 50,4%, recidiva în 21,4% și persistența sau progresiunea în 28,4%. Se demonstrează statistic că durata de timp necesară pentru ca o displazie să evolueze spre CIE este mai mică de 5 ani, că prevalența maximă a displaziei epiteliale este înainte de 35—40 de ani, a CIE în jurul a 40 de ani și a neoplasmului invaziv după 45 de ani.

c) O altă grupă de studii epidemiologice (de patologie geografică) se referă la *concomitența* unor stări precanceroase cu cancere corespunzătoare. Nu mai revenim aici asupra acestui aspect, care a fost pe larg exemplificat pentru diferitele localizări neoplazice la subcapitolul de morfologie.

Rezultă că studiile de epidemiologie aduc argumente hotărîtoare în favoarea noțiunii de precancer, deoarece folosind analiza matematică a fenomenului morbid la nivel populațional permit concluzii statistice semnificative.

30.6.

Precancerul, noțiune organizatorică

Din cele arătate pînă acum a reieșit în mod clar că noțiunea de precancer reprezintă „rațiunea de a fi” a profilaxiei și, implicit, a oricărei acțiuni de depistare în masă și diagnostic precoce. Pînă într-atît de importantă este această noțiune de precancer în organizarea luptei anticanceroase, încît „dacă nu ar fi existat, ar fi trebuit inventată”, după cum s-a exprimat cineva odată.



De fapt, noțiunea de precancer este placa turnantă a tuturor strădaniilor privind profilaxia anticanceroasă și reprezintă substratul teoretic al întregii activități organizatorice din domeniul acțiunilor de depistare în masă a precancerului și cancerului.

În legătură cu aceste aspecte organizatorice-metodologice vor fi punctate câteva aspecte.

— Acțiunile de depistare a stărilor precanceroase și a cancerului trebuie să cuprindă mase cât mai largi ale populației și cu precădere grupele de risc: vârste specifice pentru diferitele forme de cancer, anumite obiceiuri de viață (fumatul) și alimentare, anumite tratamente (de exemplu estrogeni de sinteză) etc.

— Acțiunea profilactică trebuie să fie continuă, de durată, cu repetare periodică (specifică pentru fiecare formă de cancer și test de depistare).

— Indiferent că în metodologia depistării se folosesc unul sau mai multe mijloace, clinice, paraclinice sau de laborator, într-una sau mai multe etape, toate acestea trebuie efectuate cât mai corect. Cu alte cuvinte rata rezultatelor eronate provenite din vicii de recoltare, prelucrare sau interpretare trebuie să fie minimă. În legătură cu acest aspect activitatea organizatorică este extrem de importantă și urmărește cu precădere modul de organizare a examinărilor (recoltărilor), modul de legătură cu laboratorul și organizarea însăși a laboratoarelor.

— Acțiunea trebuie finalizată cu multă grijă, ceea ce înseamnă urmărirea tuturor cazurilor preselecționate ca suspecte până la stabilirea diagnosticului de certitudine și apoi intrarea lor rapidă în circuitul terapeutic. Pentru leziunile precanceroase, un atent proces de asanare și urmărire post-terapeutică, chiar și numai acesta constituind o latură organizatorică extrem de importantă.

— Tot de domeniul organizării ține și evidența scriptică a acțiunii, care atunci când cifra de cuprindere a populației ajunge să fie de ordinul sutelor de mii și milioanele de persoane testate, impune folosirea unor metode computerizate.

— În sfârșit, dar nu în ultimul rând, sînt problemele privind asigurarea tehnică-materială și, în subsidiarul acestora, problemele de randament, economicitate și preț de cost. Foarte multe lucrări, mai ales din ultimul timp, abordează tocmai aceste aspecte.

În acest capitol am făcut mereu legătura dintre precancer și profilaxie. Se cuvine în încheiere să ne punem întrebarea în ce măsură acțiunile profilactice pentru depistarea stărilor precanceroase și a cancerului incipient au realizat realmente o scădere a incidenței cancerului invaziv și în ultimă analiză a mortalității?

Din nou, domeniul cel mai fertil în date este colul uterin, din motive lesne de înțeles: acțiunile pentru depistarea precancerului și cancerului colului uterin sînt cele mai largi și cu vechimea cea mai mare, existînd deja intervalul de timp necesar pentru ca impactul pe care l-au avut asupra mortalității să fie sesizabil. Cităm în acest sens trei acțiuni mai importante:

— Acțiunea din provincia Jefferson (Statul Kentucky — S.U.A.) (Christopherson — 1977), unde în 1956 s-a declanșat un program de screen-

ing citologic total al populației feminine, astfel că pînă în 1967 peste 90% din populația urmărită a beneficiat de minimum o examinare. Aceasta a dus la o scădere a ratei mortalității prin cancer al colului uterin în teritoriul urmărit de la 23,70/0000 la 10,80/0000, deci cu peste 50% (Christopherson, 1970). Detaliind aceste rezultate, Christopherson (1977) constată că scăderea cea mai spectaculară a mortalității s-a constatat pentru grupele de vîrstă de 30—39 de ani (cu 70,8%) respectiv 50—59 de ani (cu 69%) într-o perioadă de numai un deceniu. În același timp examenul citologic s-a aplicat neorganizat, sporadic și în restul statului Kentucky, dar pentru aceeași perioadă de timp analizată nu se constată nici o modificare a ratei de mortalitate.

— Acțiunea din Columbia Britanică (Canada) s-a desfășurat la fel în mod intensiv, spre deosebire de celelalte provincii ale Canadei unde examenul citologic nu a fost folosit în acțiuni organizate de screening, astfel că gradul de cuprindere a populației a fost mult mai mic. S-a constatat că atunci cînd procentul de participare a populației feminine a fost sub 10%, rata mortalității prin cancer al colului uterin a scăzut cu numai 16,8%; dacă procentul de cuprindere a fost de peste 25%, rata mortalității a scăzut cu 38,7%, iar în Columbia Britanică, unde practic toată populația feminină peste 20 de ani a fost cuprinsă în acțiune, rata mortalității a scăzut cu 48,2% (intervalul de timp analizat a fost între 1950 și 1972) (Raportul Walton). După un studiu mai recent, Boyes și colab. (1977) arată că rata mortalității a scăzut între anii 1958 și 1974 cu 57,9%.

— În provincia Maribo (Danemarca) (Berget—1979) acțiunea de screening citologic a început în 1967, cuprinzînd 88% din populația feminină între 30 și 50 de ani, avînd 2 etape: primul screening între 1967—1969 și un rescreening între 1971—1975. Se constată o scădere a mortalității prin cancer al colului uterin de la 22,50/0000 la 15,00/0000 pentru toate femeile peste 20 de ani (între 1963 și 1976), dar pentru grupa de vîrstă 30—54 de ani, care a cuprins marea majoritate a femeilor supuse screeningului, scăderea mortalității a fost de la 20,00/0000 la 5,50/0000, deci cu 81,4%. Dacă pentru aceeași grupă de vîrstă (30—54 de ani) se calculează mortalitatea separat numai la cele care au fost supuse screeningului, atunci aceasta a marcat scăderea și mai spectaculară, pînă la 3,80/0000, în timp ce la populația din aceeași grupă de vîrstă nesupusă screeningului citologic, mortalitatea a rămas ridicată, de 47,40/0000.

În țara noastră screeningul citologic efectuat în mai multe orașe reședință de județ între anii 1972 și 1980 (un screening și două rescreeninguri) a avut un bilanț pozitiv și în privința ratei mortalității, care pentru județul Cluj, a marcat o scădere de la 12,00/0000 la 7,80/0000, deci cu peste 33%, iar în municipiul Oradea, de la 17,10/0000 la 13,90/0000, deci cu aproape 20% (Bolba).

Concluzia tuturor acestor date nu poate fi decît una singură: depistarea în masă și tratamentul stărilor precanceroase și a cancerului incipient a dus la o scădere spectaculară a mortalității prin cancer, în raport cu populația care nu a fost supusă la asemenea acțiuni, unde curba mortalității a rămas staționară. Aceasta dovedește că stările precanceroase sînt într-adevăr o realitate și că tratamentul lor constituie modalitatea optimă de a preveni cancerul și, implicit, de a scădea mortalitatea prin această îmbolnăvire adesea necruțătoare.

Bibliografie

- ABUREL E., SAVIN SILVIA — Punctul nostru de vedere asupra diagnosticului și tratamentului neoplasmului de col în stadiile inițiale, Probleme de oncologie, vol. I, 1969, p. 95—96. Ed. Inst. Oncol. Cluj-Napoca.
- ALESSANDRESCU D., LUCA V., PASCU F., ILIESCU L. — Atlas de colposcopie, Ed. medicală, București, 1962.
- APPEL M. F. — *Southern. Med.*, 1977, 70, 10, 1 213.
- ASHLEY D. J. B. — Evans' Histological Appearances of Tumours, ed. III, Churchill-Livingstone, Edinburgh-Londra-New York, 1978.
- ATKIN N. B. — *Nature*, 1964, 202, 201.
- ATKIN N. B., BAUER M. C. — *J. nat. Cancer. Inst.*, 1966, 36, 539.
- ATKIN N. B., BACKER M. C. — *Lancet*, 1968, I, 1 158.
- AUERSPERG N., COREY M. J., WORTH A. — *Cancer Res.*, 1967, 27, 1 394.
- BANGLE R., BERGER M., LEVIN M. — *Cancer (Philad.)*, 1963, 16, 1 151.
- BABEȘ V. — Starea actuală a luptei împotriva cancerului. Comunicare la Academia Română, 4.IV, *Anal. Acad. Rom.*, 30, II, p. 165—171, vol. 31/1909/seria II, *Memor. Sect. Științ. Acad. Rom.*, p. 181—208.
- BABEȘ V. — Communication préliminaire sur la lutte contre le cancer et son diagnostic, *Bull. Sect. Sc. Acad. Rom.*, 1924, 5—6, p. 79—89, Opere Alese, vol. II, Ed. Acad. R.P.R. p. 870—880.
- BERGET A. — *Dan. Med. Bull.*, 1979, 26, 91—100.
- BODDINGTON N. M., SPRIGGS A. I., WOLFENDALE M. R. — *Brit. Med. J.*, 1965, I, 154.
- BOLBA GH. — *Muncit. Sanitar (Buc.)*, 1982, 27, 37.
- BOYES D. A., NICHOLS T. M., WILLNER A. M., WORTH A. J. — *Amer. J. Obst. Gyn.*, 1977, 128, 692—693.
- BOSTOFTE E., BERG O., SERUP J. — *Dan. Med. Bull.*, 1981, 28, 100.
- BRAHME F., EKLUND G. R. — *Dis. Colon. Recl.*, 1974, 17, 166.
- BRANDAO J. H. S. — *Acta Cytol.*, 1969, 13, 232.
- BURGHARDT E. — *Arch. f. Gynäk.*, 1969, 201, 293.
- BURGHARDT E., HOLZER E. — *Arch. f. Gynäk.*, 1970, 209, 305.
- BURGHARDT E., HOLZER E. — *Arch. f. Gynäk.*, 1972, 212, 130.
- CARDOSO J. J. M., SANGINE S. A., LEVEZ E. C. și colab. — *Ginec. Obst. Mex.*, 1972, 32, 53—58.
- CASSAGRANDE J. T., PIKE M. C., ROSS R. K. și colab. — *Lancet*, 1979, 2, 8 135.
- CHAMBERLAIN J., ROGERS P., PRICE J. L. și colab. — *Lancet*, 1975, 2, 1 026.
- CHIRICUȚĂ I., MUNTEANU S., OLINICI C. D. — Elemente pentru definirea noțiunii de precancer al colului uterin, în: *Enciclopedia Oncologică* nr. I, Cancerul colului uterin, ed. I.O.C.N. 1976 p. 38—45.
- CHIRICUȚĂ I., BOLBA GH. și colab. — Studiu critic asupra rezultatelor depistării citologice a cancerului colului uterin în 6 județe din Transilvania în: *Enciclopedia Oncol.* Vol. I, Cancerul colului uterin, Ed. Inst. Onc. Cluj-Napoca, 1976, p. 94—98.
- CHIRICUȚĂ I. — Tratamentul cancerului ovarian, în: *Chirurgia ginecologică*, sub redacția: P. Sirbu, ed. a II-a, Ed. medicală București, 1981, p. 975—1 021.
- CHIRICUȚĂ I., MUNTEANU S. — *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 1969, 105, 286.
- CHIRICUȚĂ I., OLINICI D. C., MUNTEANU S. — *Morphol. Embryol. (Buc.)*, 1977, 23, 261.
- CHRISTOPHERSON W. M., PARKER J. E., DRYE C. J. — *J. Amer. med. Ass.*, 1962, 182, 179.
- CHRISTOPHERSON W. M., PARKER J. E., MENDEZ W. M., LUNDIN F. F. jr. — *Cancer (Philad.)*, 1970, 26, 808.
- CHRISTOPHERSON W. M. — *Acta Cytol.*, 1977, 21, 5—9.
- COMSTOCK G. M., BROWNLOW W. și colab. — *Arch. Environm. Hlth.*, 1970, 21, 50.
- COSTĂCHEL O., MATEESCU M., ZINCA VICTORIA — Boala precanceroasă, Date generale, fiziopatologice, în: Probleme de oncologie, Ed. Stat pt. lit. științifică, 1953, p. 57—84.
- COSTĂCHEL O., DUȚU RODICA, CHIRICUȚĂ I., ILIESCU FLORICA — Precancerul colului uterin, în: Cancerul colului uterin, Ed. Inst. Onc. Buc., 1960, p. 52—69.

31.

Cancerul profesional

I. CHIRICUȚĂ

Cuprins

- 31.1. Generalități — 854
- 31.2. Organele „sintă” ale noxelor cancerigene — 859
- 31.3. Importanța vârstei, sexului și rasei — 860
- 31.4. Cancerul profesional prin radiații — 861
- 31.5. Evoluția clinică a cancerelor profesionale — 862
- 31.6. Dovezi histologice și clinice despre natura „profesională” a cancerelor — 863
- 31.7. Profilaxia — 863

31.1.

Generalități

Dezvoltarea impetuoasă a industriei, care a creat bunurile materiale ale civilizației actuale, are și reversul medaliei: poluarea mediului ambiant, generatoare în parte a bolilor profesionale. Printre acestea putem enumera și cancerul profesional.

Acestea au fost semnalate prin simpla observație clinică încă din 1778 de medicul chirurg englez Percival Pott, care a descris acele cancere ale scrotului, apărute frecvent la coșarii englezi ce-și îmbibau hainele cu funinginea hornurilor sobelor încălzite cu ulei. După aproape 100 de ani (1875) un chirurg din Halle, Volkmann, descrie „cancerul gudronului” apărut la muncitorii din industria extractivă a gudroanelor din cărbuni și petrol, pentru ca după alți 20 de ani (1895) un alt chirurg german, E. Rehn, să descrie cancerul vezicii urinare apărut la muncitorii din fabricile de coloranți cu anilină. De atunci s-au descris alte numeroase cancere profesionale.

Aceste prime observații au avut o importanță deosebită pentru dezvoltarea oncologiei:

- s-au descoperit pentru prima oară cancere umane cu o cauză perfect cunoscută;

- au deschis domeniul cancerului experimental, permițând în 1915 lui Yamagiwa și Ichikawa inducerea pentru prima oară a unor cancere la animale, prin badijonarea pielii animalelor (iepuri) cu gudroane. Astfel, oncologia experimentală a putut lămuri numeroase aspecte fiziopatologice și mecanisme biochimice specifice oncogenezei;

— ulterior, studiul chimic al substanțelor cancerigene a luat o dezvoltare deosebit de mare;

— cancerele profesionale și experimentale au permis căutarea fundamentării unor principii de profilaxie rațională a multor cancere spontane (pulmonare, cutanate, gastrice, de col uterin, peniene etc.), pornindu-se de la ideea că îndepărtarea unor noxe va evita apariția cancerului.

Cităm de exemplu precizarea rolului smegmei în geneza cancerului penisului: se știe astăzi cu certitudine că circumcizia practică înaintea de vârsta de 6 ani (la evrei) este elementul capital pentru profilaxia efectivă a cancerului penian. Circumcizia efectuată după vârsta de 6 ani (la unele popoare musulmane) nu conferă decât o protecție parțială; dacă apar după această circumcizie tardivă, cancerurile de penis își manifestă primele simptome după o perioadă latentă de 25—35 de ani de la circumcizie. În ceea ce privește cancerul pulmonar, s-a precizat rolul pe care-l joacă fumatul.

Cu denumirea de „cancere profesionale” se definesc cancere determinate de agenți specifici (chimici sau fizici) care acționează asupra organismului în condițiile de muncă ale unor anumite profesii.

Hueper (1), cercetător de autoritate incontestabilă în această problemă, dă următoarea definiție: „Cancerurile profesionale iau naștere pe baza condițiilor de influență în timpul exercițiului funcțiunii obișnuite și nu sînt urmarea tulburărilor neobișnuite, întâmplătoare în timpul muncii prin unii agenți nespecifici chimici sau fizici” („Cancerul traumatic sau prin accident”); „ideea că o singură traumă fizică sau chimică ar putea determina apariția unui cancer acut traumatic ar trebui părăsită de membrii profesiunilor medicale și juridice”. Majoritatea covârșitoare a materialului epidemiologic doveditor pledează împotriva teoriei că o singură traumă mecanică sau chimică poate provoca un „cancer acut traumatic”.

Totuși, Hueper face mențiunea că un traumatism poate juca un rol în dezvoltarea cancerelor atunci cînd traumatismul permite introducerea unei noxe cancerigene în corp; de asemenea, traumatismul poate accelera evoluția unui cancer preexistent (cancerul de sîn, melanomul malign etc.).

Avem unele rezerve de făcut la argumentația lui Hueper, deoarece am văzut cancere apărute după o singură traumă; cancer apărut la 20 de ani după o arsură a labei piciorului cu acid azotic (accident în timpul muncii) sau leucemii apărute după o singură iradiere masivă prin accident. Considerăm că aceste cancere apărute prin accidente excepționale pot fi încadrate tot printre cancerurile profesionale, atunci cînd apar în condițiile unei profesii ale cărei noxe profesionale pot fi cancerigene.

O caracteristică a cancerelor profesionale (care le deosebesc de majoritatea celorlalte boli profesionale) este că apar la un mare interval de la încetarea acțiunii noxelor cancerigene, existînd cancere profesionale care apar și după zeci de ani, pînă la 50 de ani, de la intrarea sau ieșirea muncitorului din contactul cu noxa profesională cancerigenă, pe care Hueper o numește și cancerigen profesional.

Cancerurile profesionale au o cauză bine cunoscută, aceasta fiind noxa cancerigenă profesională, cum ar fi: azbestul, cromul, nichelul, uraniul, gudroanele, radiațiile ionizante ș.a.

Prin aceasta cancerurile profesionale se deosebesc de restul cancerelor a căror cauză certă este necunoscută și care au fost denumite „cancere spontane”.



Trebuie precizat că prin *cancere profesionale* nu se înțelege numai cancerle apărute în mediul industrial ce utilizează noxe cancerigene, în această categorie incluzându-se și cancerle apărute în mediul agricol („cancerul cutanat al fermierilor”) sau alte profesii exercitate în plină natură (marinari, pescari), unde pielea, în special a feței este expusă în exces la raze ultraviolete, vînt și praf.

Acești excitanți obișnuiți ai mediului natural devin nocivi cînd depășesc pragul excitanților naturali și acționează pe anumite terenuri probabil predis-puse la oncogeneză.

Se consideră ca factori care potențează razele ultraviolete: altitudinea mare, clima uscată, vînturile aproape continui și gradul de încărcare a atmosferei cu pulberi; contează mult și modul de reflectare a ultravioletelor: întinderi mari de ape sau pustiuri nisipoase, care reflectă intens ultravioletele solare (Hueper).

— *Frecvența*: potrivit ultimului raport (1972) al experților OMS în problema cancerelor profesionale (Clayson, Druckery, Furst, Owen, Shubik, Truhaut), cazurile de *cancere profesionale* raportate și bine documentate sînt rar întîlnite: 1% din incidența totală a cancerelor (4). Probabil că proporția este mult mai mare, și în viitor va crește cu siguranță, ca un rezultat al poluării crescînde a mediului industrial.

Dificultățile întocmirii unei statistici exacte se datoresc faptului că:

— uneori este încă foarte greu de precizat că mediul profesional a jucat un rol cert determinant în „apariția” cancerului;

— o „reconstituire retrospectivă” este foarte greu de făcut, deoarece uneori există o complexitate încîlcită a factorilor care compun „mediul profesional”;

— deseori există o latență foarte lungă (pînă la 50 de ani) între perioada în care s-a lucrat cu o anumită noxă și apariția cancerului, de cele mai multe ori muncitorul neavînd întocmită o fișă medicală de urmărire pe etape a stării sănătății. Mulți muncitori și-au schimbat în acest interval de mai multe ori mediul profesional, încît dezlegarea cazului este foarte dificilă. Cauza este mai ușor de stabilit la muncitorii care au lucrat permanent în același mediu profesional. În afară de aceste cazuri discutabile, sînt cazuri de *cancere* unde profesiunea a contribuit indiscutabil la apariția cancerelor.

— *Localizare*. De obicei, cancerle profesionale apar la barierele organismului (piele, faringe-cavum, laringe, plămîni) care vin în contact frecvent cu noxele cancerigene industriale. Pot să existe și localizări la oase sau organele hematopoietice, datorită stocării în aceste organe a substanțelor cancerigene pătrunse în organism.

— *Cancere profesionale interne și externe*. În cadrul unei întreprinderi care utilizează noxe dovedite cancerigene, trebuie să se individualizeze pericolul oncogen la fiecare sector de producție în parte. Astfel se poate identifica exact momentul tehnologic periculos.

Există întreprinderi unde practic, toate persoanele, indiferent de sectorul producției, sînt expuse noxelor cancerigene. Cităm ca exemplu întreprinderile care prelucreză cromul, în care întreg mediul de muncă poate fi contaminat cu produși cancerigeni derivați ai cromului (Hueper). Pericolul se extinde și la persoanele din curte care lucrează la încărcarea sau transportul produselor de crom defectuos ambalate, ca și la populația din vecinătatea imediată a întreprinderii, care respiră aerul poluat cu vapori de crom sau intoxicarea aerului locuinței prin aducerea acasă a salopetelor îmbibate cu substanțe cancerigene.

Aceleași pericole există și în industria de azbest. Hueper distinge cancerele profesionale interne (incinta întreprinderii) de cancerele profesionale externe, care pot să apară la populația din vecinătatea instituției.

De asemenea, s-a precizat că industriile care prelucrează gudroane de cărbune sau gudroane de petrol pot să expună la cancer profesionale, în schimb pericolul dispare în industriile care folosesc derivații acestor gudroane (Hueper). Identică este situația în industria aminelor aromatice (utilizate larg în prepararea culorilor, industria antioxidantă a cauciucului, industria medicamentelor, tipografii etc.), dar numai câteva din ele sînt cancerigene profesionale (beta-naftilamina).

— *Importanța stării sub care se află noxa cancerigenă. Importanța factorilor aditivi.* Puterea cancerigenă a unei substanțe chimice depinde mult de forma chimică sub care intră în contact cu organismul: compuși solubili sau insolubili — inerti. Sînt mult mai periculoase substanțele cancerigene aflate sub o „formă biologică activă”, adică sub o formă care să poată intra în acțiune reciprocă cu țesuturile (Hueper, Berenblum).

Acest aspect a fost studiat bine în industria cromului. De exemplu, cromatul de plumb, care este aproape insolubil în apă, induce foarte rar tumori la șobolan, perioada de latență fiind lungă (18—22 de luni). Cromatul de bariu, mai solubil, induce tumori în proporție ceva mai mare, perioada de latență fiind mai scurtă; în schimb, sărurile ușor solubile ale cromului (cromatul de calciu, cromatul de stronțiu sau cromatul de zinc) induc tumori experimentale în proporție mare și cu o perioadă de latență foarte scurtă (4 luni). O importanță mare se acordă factorilor aditivi inerenti uneori mediului industrial ca: solvenți organici, umectanți, alte substanțe, care vaporizîndu-se, irită pielea și mucoasele (respiratorii în special) ca: vaporii de acizi sau alcooli calzi, ceață prin aerosoli de apă sau uleiuri, pulberi iritative etc. Acești factori aditivi pot să intensifice acțiunea substanței cancerigene, devenind adevărați cocancerigeni. Se pare că fumatul este un puternic factor cocancerigen, care mărește riscul pentru cancerogeneza pulmonară a muncitorilor ce lucrează deja cu substanțe cancerigene (crom, azbest, amine aromatice, uraniu etc.). Nu se știe încă precis ce rol aditiv este jucat de alcoolismul cronic, dar se pare că nu poate fi ignorat.

Raportul experților OMS (4) recomandă studii sistematice epidemiologice și experimentale pentru precizarea rolului factorilor aditivi.

— *Timp de acțiune, timp de latență, timp de tergiversare.* Aceste noțiuni sînt foarte importante pentru studiul cancerelor profesionale. Redăm definițiile date de Hueper.

Lungimea perioadei de timp în care muncitorul a fost în contact nemijlocit cu noxa cancerigenă se numește *timp de acțiune*. Perioada de timp scursă din momentul intrării cancerigenului în contact cu organismul și apariția cancerului profesional se numește *timp de latență*. Prin *timp de tergiversare* se înțelege timpul scurs de la sistarea acțiunii cancerigenului și pînă la apariția primelor simptome de cancer.

Problema timpului de acțiune a suscitat numeroase discuții și controverse. În general, se admite că pericolul crește cu cît timpul de acțiune a cancerigenului este de mai lungă durată. Anchetele epidemiologice (tabelul 31. I) și experiențele pe animale întăresc această concluzie.

Experimental s-a dovedit că aceeași cantitate de substanță cancerigenă (de exemplu benzpiren) administrată în doze mici fracționate, timp de mai multe luni,

TABELUL 31.I

**CORELAȚIA DINTRE TIMPUL DE ACȚIONARE
ȘI PROPORȚIA DE LEZIUNI DISTROFICE ȘI CANCERE CUTANATE INDUSE
DE GUDRON (SLADDEN) (HUEPER)**

Timp de acțiune (în ani)	1-5	6-10	11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-40	Peste 41
Procente de distrofii (negi de gudron) și cancere cu- tanate	17	21	36	67	69	71	77	80	100

declanșează la șoareci cancere într-o proporție cu mult mai mare decât aceeași cantitate de cancerigen administrată sub forma unei doze unice (tabelul 31. II).

TABELUL 31.II

**TUMORI OBTINUTE LA ȘOARECE PRIN INJECTAREA ACELEIAȘI CANTITĂȚI
DE BENZPIREN SUB FORMA DE DOZĂ UNICĂ
SAU ÎMPĂRȚITĂ ÎN DOZE MICI FRAȚIONATE INJECTATE
MAI MULTE LUNI**

Doza totală (mg)	Numărul de șoareci cu tumori la locul injectării (A) și numărul de animale care au supraviețuit la diferite intervale de timp (B)								Procen- tul de animale cu tumori (%)
	3 luni	6 luni	9 luni	12 luni	15 luni	18 luni	21 luni	24 luni	
D.U.=0,25 mg	0/70	12/55	18/49	20/46	20/36	20/22	20/13	20/0	28
D.F.=totalizînd 0,24 mg	0/71	4/67	16/52	23/42	32/26	43/9	44/6	44/0	61
D.U.=0,50 mg	0/71	14/56	18/52	19/43	19/23	19/19	19/12	19/0	26
D.F.=totalizînd 0,48 mg	0/70	2/68	19/51	34/31	16/12	52/4	53/2	53/0	74

În fiecare grup au fost 36 de șoareci masculi și 36 de șoareci femele rasa C-57-Black.

D.U. = doză unică

D.F. = doze fracționate

administrare lunar pînă au totalizat cantitatea de benzpiren menționată.

Dacă în general timpul de acțiune a cancerigenilor este de ani, se citează cazuri excepționale unde timpul de acțiune este foarte scurt.

De exemplu, se cunoaște apariția cancerului cutanat după o singură ședință prelungită de radioterapie. Se citează sarcoame hepatice după o singură colecistografie cu substanțe bilioopace radioactive pe bază de bioxid de thoriu. Radiațiile produse de explozia atomică de la Hiroshima au durat puțin, dar au fost foarte intense și au provocat la supraviețuitorii cataclismului numeroase leucemii.

În industriile cu cancerigeni, lucrătorii care întrețin aparatura (refacerea etanșeității, înlocuirea de piese etc.) și sînt expuși la emanații brusce și masive de substanțe cancerigene prezintă risc crescut în comparație cu riscul muncitorilor care lucrează constant într-un mediu cu noxe reduse, datorită respectării normelor de protecția muncii.

În afară de aceste excepții, pericolul crește cu cît timpul de acțiune a carcinogenului este de mai lungă durată. Uneori apar dificultăți cînd vrem să stabilim durata timpului de acțiune. Dificultățile sînt date de rotarea mun-

citorilor în diferite secții ale aceleiași întreprinderi, cu grade diferite de periculozitate, transferarea în întreprinderi fără periculozitate și revenirea în mediul toxic etc. De aceea, se recomandă ca în industriile care utilizează cancerigeni să existe fișe medicale, în care aceste elemente să fie corect consemnate. Contează foarte mult gradul de periculozitate a sectorului unde lucrează muncitorul, în cadrul aceleiași întreprinderi existând sectoare cu diferite periculozități (condițiile de muncă, tehnologie modernă cu aparate etanșe sau tehnologie primitivă, modul cum au fost respectate normele de protecție și igienă a muncii etc.). Din acești „timpți”, timpul de latență poate fi cel mai corect apreciat și acesta impresionează prin lungimea lui, până la 50 de ani (fapt caracteristic pentru cancerele profesionale). Tabelul 31. III indică timpul de latență al unor cancer profesionale.

TABELUL 31. III

TIMPUL DE LATENȚĂ AL UNOR CANCERE PROFESIONALE
(HUEPER)

Organul și noxa cancerigenă	Timpul de latență în medie (ani)	Amplitudinea de oscilație a timpilor de latență (ani)
<i>Piele</i>		
Arsen: medicinal	18	3—40
profesional	25	4—46
Gudron	20—24	1—50
Ulei brut parafină	15—18	3—35
Iradiație solară (ultraviolete)	20—30	15—40
Iradiație Röntgen	7	1—12
<i>Plămîn</i>		
Azbest	18	15—21
Crom	15	5—47
Nichel	22	6—30
Vapori de gudron	16	9—23
Raze ionizante	25—35	7—50
<i>Vezica urinară</i>		
Amine aromatice cancerigene	11—15	2—40

Existența acestui timp de latență extrem de prelungit uneori, creează obligația pentru întreprinderi și pentru cei ce vor să studieze temeinic epidemiologia cancerelor profesionale, să verifice starea oncologică și după pensionarea (sau transferarea) muncitorilor.

31.2.

Organele „țintă” ale noxelor cancerigene

În general se poate vorbi de „organe țintă” pentru mulți cancerigeni utilizați în industrie. De exemplu, *pielea* este lezată de: arsen, gudroane, radiații ionizante, ulei brut de parafină etc. *Plămînul* este lezat de azbest, crom, nichel, particule mici de uraniu radioactiv (cazul minerilor) etc. *Vezica urinară* este lezată de aminele aromatice (betanaftilamină) care se elimină prin urină, *oasele* de substanțele fosforescente radioactive și alți compuși radioactivi (cobalt, stronțiu etc.).

— *Glanda mamară* este o țintă pentru estrogenii (naturali și de sinteză) utilizați în industria farmaceutică.

Aceste „ținte” se explică prin modul de venire în contact a organismului cu noxa cancerigenă, zonele unde cancerigenul poate contracta legături stabile cu organismul sau sînt explicate prin metabolizarea sau eliminarea selectivă prin anumite organe.

În practică se constată numeroase abateri, „țintele” fiind multiple sau cu totul altele decît cele așteptate.

Sînt foarte importante și particularitățile existente în diferite momente tehnologice ale manipulării noxelor, care pot fi uneori sub formă de soluție (va veni în contact mai ușor cu pielea), vapori ori pulbere (va veni în contact cu arborele respirator), sau sub altă formă.

În cazul vaporilor toxici contează foarte mult dimensiunea particulelor de aerosoli. De exemplu aerosoli cu dimensiuni mari nu pot depăși căile superioare aero-digestive (choane nazale, faringe, laringe).

Dacă particulele au un diametru mai mic de 4 microni, ajung pînă la bronhii și bronhiole, iar dacă sînt sub formă gazoasă sau vapori, pot să ajungă în alveole și în sinusurile paranazale.

31.3.

Importanța vîrstei, sexului și rasei

S-a dovedit că factorii de vîrstă, sex și rasă trebuie luați în considerare ori de cîte ori se încearcă un studiu epidemiologic al cancerelor profesionale.

Factorul vîrstă este greu de apreciat la justa valoare, deoarece fiecare deceniu de vîrstă își are rata sa de cancer spontan și aceste rate de frecvență cresc cu cît vîrsta este mai înaintată (bătrînii fac mai frecvent cancere spontane decît tinerii). Pe de altă parte, în procesul de producție există anumite ramuri care cer muncitori tineri, iar altele la care pot face față și vîrstnicii.

Teoretic ar trebui ca grupele de producție cu muncitori mai în vîrstă să aibă și mai multe cancere, deoarece la cancerele profesionale apărute se adaugă și cancerele spontane, mult mai frecvente la vîrstnici.

Studiile epidemiologice efectuate pînă în prezent (care au multe lacune încă) arată tendința cancerelor profesionale de a apărea mult mai frecvent la muncitorii tineri, la care perioada de expunere la noxa cancerigenă a fost la vîrste mai tinere.

Deci, vîrsta la care devine manifest un cancer depinde de vîrsta la care persoana și-a început activitatea profesională într-un mediu cu noxe cancerigene (Hueper, Frei).

Ancheta întreprinsă în Anglia asupra cancerelor scrotului la coșari subliniază acest aspect. În secolul al XIX-lea se angajau de preferință în această profesiune tineri (chiar copii), dată fiind ușurința cu care aceștia puteau să umble pe acoperișurile clădirilor înalte sau să intre chiar în interiorul coșurilor. Observîndu-se că incidența cancerului scrotal la acești tineri este mare, începînd din primul deceniu al veacului al XX-lea s-a interzis prin lege angajarea tinerilor sub 18 ani în această profesiune. Rezultatul a fost că incidența cancerelor scrotale la adulții tineri (pînă la 45 de ani) a scăzut, aceste cancere începînd să apară la vîrste înaintate.

TABELUL 31.IV

DISTRIBUȚIA PE VÂRSTE A CANCERELOR DE SCROT LA COȘARI ÎN ANGLIA

Vârsta în ani	Statistica (cazuri) în 1892	Statistica (cazuri) în 1935
25—35	4	1
36—45	7	6
46—55	14	18
56—65	4	33
66—75	—	28
76—85	—	17
Vârsta medie	45—50	61,9

TABELUL 31.V

CANCERELE VEZICII URINARE PRIN AMINE AROMATICE

Vârsta în momentul începerii lucrului (ani)	Sub 30	30—40	Peste 40
Numărul cazurilor	40	17	9
Vârsta medie în momentul diagnosticului	42 ani	51 ani	58 ani

Tabelele 31.IV și 31.V redau această situație (Hueper).

Același aspect (predominanța la tineri) îl prezintă și cancerle pielii prin arsen, gudroane, parafină și raze Röntgen sau în cancerle pulmonare induse de azbest etc.

— Rolul jucat de *sexul* bolnavilor, întrevăzut ca important pentru anumite localizări, nu poate fi precizat din lipsa de studii epidemiologice temeinice. Se știe că la femei există o incidență impresionant mai scăzută a cancerelor pulmonare spontane (chiar și la fumătoare) în comparație cu incidența alarmant crescută a acestor cancere la bărbat. Ar fi interesant de văzut dacă această „rezistență naturală” a femeilor se manifestă și în contact cu noxele cancerigene industriale.

De asemenea, se știe că estrogenii în exces pot influența creșterea incidenței cancerelor mamare la femei, fapt care ridică problema riscului crescut al femeilor din industria substanțelor estrogenice.

— Și asupra *rolului rasei* în epidemiologia cancerelor profesionale lipsesc date certe. Din statisticile americane rezultă că negrii (nu și negrii albi) au o rezistență crescută față de cancerle profesionale cutanate; explicația este că probabil pigmentul conferă o rezistență pielii.

31.4.

Cancerle profesionale prin radiații

În cadrul cancerelor profesionale se acordă o importanță din ce în ce mai mare cancerelor profesionale declanșate de radiațiile ionizante (când sînt depășite anumite praguri).

Utilizarea radiațiilor ionizante devine astăzi din ce în ce mai mare. Ele sînt întîlnite începînd cu extragerea minereurilor radioactive (uraniu), în industrie cu foarte diversificate profiluri, în cercetarea științifică în general, în medicină, încît domeniile de activitate care reclamă utilizarea lor, necesită o supraveghere strictă. În prezent (raportul OMS, 1972) se apreciază că subiecții expuși la radiații ionizante formează o proporție de 2—8% din populația muncitoare (statistica analizează țările dezvoltate).

Sînt urmărite în special 3 categorii de muncitori:

— medicii radiologi la care se constată uneori distrofii cutanate ale mîinilor, veritabile precancere, cancere cutanate și leucemii.

Incidența acestor cancere profesionale este în scădere datorită măsurilor de protecție (dozimetre individuale, ecranarea aparatelor etc.), fapt care a făcut ca accidentele să fie excepționale;

— muncitorii din fabricile de produse luminescente (ceasuri fosforescente, firme fosforescente, indicatoare de noapte etc.); la aceștia cancerul profesional este localizat la oase, substanțele radioactive acumulîndu-se în sistemul osos. Sînt cunoscute sarcoamele maxilarului la pictorii de firme fosforescente, care sînt obligați, lucrînd la înălțimi mari, să-și țină între dinți pensulele contaminate;

— minerii din minele de uraniu și alte minereuri radioactive (spat, fluor, hematită) sînt expuși la cancere profesionale cu localizare pulmonară. În afară de inhalarea particulelor de minereu de uraniu, la aceștia joacă un rol indiscutabil factori favorizanți ca: pulberile inerte inhalate, creșterea radonului în aerul din mină, fumatul etc. Și la aceștia au fost luate măsuri eficiente pentru diminuarea riscului: mecanizarea procesului de extracție a minereurilor, utilizarea unor substanțe care diminuează riscul reținerii unor substanțe radioactive în corp ca agenții kelatori.

31.5.

Evoluția clinică a cancerelor profesionale

În majoritatea cazurilor, evoluția cancerelor profesionale este similară cu a cancerelor spontane. Cancerele profesionale ale pielii sînt adesea precedate de stări distrofice, veritabile precancere, fapt care permite luarea din timp a măsurilor terapeutice. Pentru Hueper, cancerele profesionale ale organelor profunde (plămîn, vezică) au adesea o evoluție rapidă. Citează cazuri de cancere pulmonare prin cromati, la care microradiografia pulmonară efectuată cu 6 luni înainte nu arată nici o suspiciune de diagnostic a unui cancer inoperabil (Frei).

Uneori apar cancere pulmonare și mai ales vezicale, în focare multiple sau pe suprafețe mari ale mucoasei, cu evoluție foarte gravă.

În alte cazuri (rare), sub acțiunea aceleiași noxe cancerigene, apar cancere în mai multe organe, dat fiind că substanța chimică (vapori de crom, insecticide etc.) a venit în contact cu mai multe bariere ale organismului (piele, plămîn, tub digestiv). Hueper citează cazul unui muncitor pulverizator de uleiuri pentru gresare, care a făcut cancere de piele, plămîn și stomac. Un muncitor din industria de insecticide pe bază de arsen, a făcut cancere ale pielii, plămînului și ficatului, iar un alt muncitor care manipula substanțe radioactive, a făcut cancere ale pielii, plămînului și leucemie.

31.6.

Dovezi histologice și clinice despre natura „profesională” a cancerelor

Reconstituirea anamnestică a cazului poate oferi date prețioase asupra naturii întreprinderii în care a lucrat bolnavul (precizarea noxei cancerigene), timpului de acționare a noxei și precizarea timpului de latență.

În general, examinarea histo-patologică a leziunii nu poate aprecia caracterul „profesional”, tipurile histo-patologice ale cancerelor profesionale fiind similare cu ale cancerelor spontane. Există totuși situații în care examenul histo-patologic poate aduce precizări interesante:

- cancerele prin azbestoză prezintă corpusculi de azbest în masa tumorală și parenchimul pulmonar natural;
- arsenul poate fi detectat prin colorații histo-chimice specifice ale tumorii. El poate fi detectat chimic în fanere (păr, unghii) și piele;
- cromul (și compușii) poate fi detectat chimic în cenușa părului ars;
- prezența substanțelor radioactive (uraniu, thoriu etc.) poate fi evidențiată prin autohistografie;
- prezența unei arterite cronice obliterante și a unei fibroze în jurul cancerului ridică suspiciuni asupra naturii radioactive a cancerului;
- aminele aromatice pot fi depistate în urina bolnavilor cu cancer vezical profesional prin metode spectroscopice;
- benzenul mai poate fi evidențiat biochimic în măduva oaselor la leucemiile profesionale, chiar la mai multe luni după ieșirea din mediul toxic.

Tratamentul cancerelor profesionale este același cu al cancerelor spontane, care au aceeași localizare.

31.7.

Profilaxia

Unele substanțe care pot declanșa cancer profesional sînt atît de importante pentru industrie, încît nu se poate discuta înlocuirea sau evitarea lor. Ele au intrat puternic în procesul de fabricație al mării industrii (cromul, azbestul etc.): în industria alimentară (coloranți, conservanți etc.), agricultură (ierbicide, paraziticide), zootehnie, cosmetică, industria medicamentelor etc. Există însă alte noxe cancerigene care pot fi înlocuite cu alte noxe necancerigene (sau mult mai puțin cancerigene). De exemplu, se caută înlocuirea beta-naftilaminei (cancerigen vezical) cu alfa-naftilamina (total necancerigenă) în procesul de fabricație al coloranților de anilină.

În unele țări dezvoltate industrial (Anglia, URSS), numeroase substanțe cancerigene au un program restrictiv de utilizare (de exemplu benzidina și sărurile ei: dicloro-3-benzidina, beta-naftil-amină, 4-nitro-difenil și dianisidina).

În unele țări s-a mers chiar pînă la interzicerea utilizării unor substanțe numai pe considerentul că experimental s-au dovedit cancerigene pentru unele animale (acetilamino-2-fluorenil ca insecticid, dimetil-nitrozamina ca solvent, amino-4-difenilul etc.).

Pentru substanțele cancerigene care nu pot fi evitate sau înlocuite, se recomandă modernizarea procesului de fabricație prin mecanizarea producției

cu aparatură etanșă în circuite închise etc. Procesul tehnologic poate modifica radical pericolul oncogenic pe care-l poate reprezenta industrializarea unei anumite substanțe, considerată cancerigenă.

Hueper și Frei citează de exemplu modernizarea procesului de izolare a parafinei în rafinăriile de uleiuri. Acolo unde se utilizează procesul tehnologic primitiv bazat pe munca manuală, cu venirea în contact direct a pielii cu parafină, pot apărea cancere cutanate cu localizare la mâini, brațe, scrot și probabil cancere ale plămânului. Acolo unde parafina se izolează cu solvenți prin procedee semiautomate cu aparatură etanșă și unde contactul tegumentelor cu ceața uleioasă este redusă la cantități neglijabile, aceste cancere nu mai apar.

În industriile cu pericol oncogen, o importanță deosebită trebuie să se acorde reducerii aerosolilor nocivi, prin primenirea intensă a aerului (exhaustare, ventilație, aer curat sub presiune etc.).

Se recomandă evitarea la maximum a factorilor sinergici: pulberi inerte, vapori supraîncălziți, acizi sau bazi, fumatul, abuzul de examene radiologice la muncitorii cu azbestoză, silicoză sau alte pneumoconioze.

O atenție crescută trebuie să se acorde eliminării deșeurilor acestor întreprinderi. Ele vor fi astfel eliminate, încât să nu polueze atmosfera, apa sau solul zonei populate din jurul fabricii.

Este important să se ia măsuri de respectare cu strictețe a normelor de igiena muncii și de protecție a muncii, trasate fiecărei industrii, în funcție de specificul ei. Pentru ca aceste măsuri să fie respectate, este necesar să se pună un accent deosebit pe educația sanitară a muncitorilor (la toate nivelurile întreprinderii), să li se arate necesitatea de a respecta cu strictețe aceste măsuri. Prezența la aceste cursuri trebuie să fie obligatorie, în special pentru responsabilii cu toate ramurile. Este absolut necesar ca fiecare muncitor din sectoarele cu pericolozitate să aibă întocmite fișe medicale (diferențiate cu specificul muncii), care să fie foarte corect ținute la zi. De aici, obligativitatea controalelor periodice de sănătate, nu efectuate în general, ci să se urmărească organele țintă prin teste bine precizate, la fiecare profil de întreprindere în parte.

Progresele în studiul cancerului profesional s-au făcut prin trei metode: — metoda observațiilor clinice, aprofundarea studiilor epidemiologice și prin studii experimentale (declanșarea cancerelor experimentale la animale, cu ajutorul noxelor industriale bănuite cancerigene). În toate aceste studii s-au realizat progrese incontestabile, dar rămâne ca tot prin ele să se elucideze lacunele mari rămase încă în studiul cancerului experimental. De exemplu, este necesar să se studieze mai bine condițiile care creează riscul pentru fiecare sector din aceeași industrie, care se arată că este producătoare de cancere profesionale. Fișele epidemiologice să fie concepute și completate cu simț de răspundere în așa fel, încât să răspundă cu date certe tuturor supozițiilor.

Să se studieze în afară de efectele substanței cancerigene propriu-zise și importanța factorilor asociați, de risc (factori sinergici, factori cocancerigeni). Urmărirea stării de sănătate a muncitorilor să fie făcută pe baza unor fișe medicale complexe; se insistă asupra corectitudinii și responsabilității completării acestor fișe, din care să se poată stabili corect condițiile de muncă în prezența carcinogenului, măsurile de protecție a muncii luate și dacă acestea au fost corect respectate. Din aceste fișe să se poată deduce cu certitudine timpul de acționare, timpul de latență și timpul de tergiversare. Aceasta obligă la

menținerea deschisă a fișei și după pensionarea sau transferarea muncitorului, urmărirea lui făcându-se pînă la exitus, a cărui cauză trebuie precizată pe bază de necropsie.

Este necesar să se urmărească starea de sănătate a populației din vecinătatea întreprinderii, pentru a se vedea efectele poluării, ca și măsurile care trebuie luate pentru evitarea acesteia (cancerle profesionale de vecinătate — Hueper). Este necesar ca pe baza acestor studii epidemiologice să se studieze pe plan internațional măsurile și legislațiile care să reglementeze utilizarea, sistemul de fabricare și măsurile de protecție a muncii în industriile și profesiunile cu risc oncologic crescut.

Între studiile epidemiologice și studiile experimentale urmărind declanșarea cancerelor la animale, trebuie să existe o legătură strînsă (un veritabil feedback).

De exemplu, dacă studiul epidemiologic arată că un anumit complex de substanțe chimice pot să determine apariția de cancer profesional, numai prin experimentul pe animale se poate studia acțiunea cancerigenă a fiecărei substanțe chimice în parte, putînd preciza care este noxa cancerigenă din amalgamul de factori chimici în discuție.

Studiul pe animale oferă date orientative, mărește vigilența, obligînd la adîncirea și diversificarea cercetărilor epidemiologice, dar nu se poate suprapune întru totul patologiei umane. De exemplu, substanțele estrogenice (cum este și foliculina) sînt cancerigene pentru mamelele șoarecilor masculi (experiențele lui Lacassagne), dar nu și pentru mamelele altor animale. La hamster, estrogenii de sinteză induc cancer renale și nu afectează mamelele. Galbenul de unt (diamino-azobenzenul) induce cancer hepatic la șobolani, dar nu și la alte animale. Nu mai menționăm rezistența naturală a cobailor la cancerizarea experimentală. Cancerul experimental nu poate preciza organul țintă la care este expus omul ce vine în contact cu același cancerigen. De exemplu, organul țintă pentru amino-4-difenil este la șobolan intestinul, la om și cîine vezica urinară.

De asemenea, cu unii cancerigeni cerți pentru om (azbestul, arsenul, uleiul izopropilic) nu au putut fi induse în mod cert cancer la animale. Cu toate aceste rezerve, studiul experimental completează fructuos studiul epidemiologic.

Rezultă că elucidarea problemei cancerelor profesionale nu poate fi făcută decît de colective largi și foarte diversificate de specialiști (oncologi, igienişti specializați în problemele protecției muncii, biologi, chimiști, radiobiologi, ingineri și tehnicieni).

OMS a însărcinat cîteva organisme ale sale să se ocupe susținut de problema experimentală a cancerelor profesionale, pentru a se elucidă lacunele existente în studiul genezei, epidemiologiei, clinicii și profilaxiei cancerelor profesionale constatate în colectivitățile umane.

— *CIRC* = Centrul Internațional de Cercetări asupra cancerului cu sediul la Lyon, are sarcina să investigheze și să publice studii asupra problemei;

— *CSNUERI* = Comitetul științific al Națiunilor Unite pentru studiul efectelor radiațiilor ionizante,

— *CIPR* = Comisia Internațională de protecție radiologică.

— *FAO* = (Food and Agricultural Organization) Organizația Națiunilor Unite pentru alimentație și Agricultură (OAA).

Periodic se întrunește Comitetul de experți în cancerul profesional al OMS pentru a completa listele cancerigenilor profesionali și a elabora soluții tehnologice pentru diminuarea la minimum a noxelor cancerigene în procesul producției și a recomanda noi măsuri profilactice.

O primă recomandare a comisiei de experți OMS este ca țările în curs de dezvoltare industrială să-și organizeze noile industrii, trăgând concluzii din experiența țărilor dezvoltate care au parcurs aceste „amare experiențe”, din care au rezultat unele concluzii ferme.

Până în prezent, din lista numeroaselor substanțe considerate cancerigene, numai la puține există certitudinea că pot induce cancere profesionale. Alte substanțe au indus numai cancere experimentale pe animal, dar în ceea ce privește efectul cancerigen asupra omului lipsesc date; în sfârșit, mai există o categorie de substanțe, unde se bănuiește efectul cancerigen numai pe baza structurii lor chimice (prezența nucleilor chimici cancerofori de tip fenantren, legătura azobenzenică sau hidrocarburi ce prezintă zona K și L), fără să existe încă dovezi experimentale sau clinice că ar induce cancere.

De aceea, în acest tratat am împărțit substanțele cancerigene în două grupe: substanțe care s-au dovedit cu certitudine că pot să determine apariția de cancere profesionale și substanțe potențial cancerigene (unde dovada clinică și uneori cea experimentală lipsesc). Aceasta nu înseamnă că în industriile în care se folosesc substanțe din grupa cancerigenilor potențiali să nu fie luate măsuri de protecție a muncii și tocmai aici trebuie efectuate studii epidemiologice serioase.

v.

profilaxia cancerului

32.

Profilaxia cancerului

I. CHIRICUȚĂ • S. MUNTEANU

Cuprins

- 32.1. Definiția noțiunii — 869
- 32.2. Unele aspecte ale profilaxiei primare a cancerului — 871
 - 32.2.1. Factorii etiologici extrinseci și profilaxia primară — 872
 - 32.2.1.1. Factorii de mediu — 873
 - 32.2.1.1.1. Poluarea chimică — 873
 - 32.2.1.1.2. Poluarea fizică — 875
 - 32.2.1.1.3. Poluarea biologică — 876
 - 32.2.1.2. Virusurile — 877
 - 32.2.1.3. Alimentația — 879
 - 32.2.2. Factorii etiologici intrinseci și profilaxia primară — 881
 - 32.2.2.1. Factorul genetic — 881
 - 32.2.2.2. Imunitatea — 884
 - 32.2.2.3. Metabolisme viciate — 885
 - 32.2.2.4. Factorii hormonal — 889
 - 32.2.2.5. Factorul psiho-emoțional — 890
- 32.3. Profilaxia secundară a cancerului — 891
 - 32.3.1. Cancerul colului uterin — 892
 - 32.3.2. Cancerul mamar — 895
 - 32.3.3. Cancerul gastric — 897

32.1.

Definiția noțiunii

Prin profilaxia cancerului în sensul strict, restrictiv al cuvântului, se înțelege *prevenirea* apariției unei leziuni maligne. Cunoștințele noastre fragmentate, incomplete, privind etiopatogenia cancerului fac ca în domeniul oncologic, ecuația „îndepărtarea cauzei = prevenirea efectului” să nu fie aplicabilă și astfel acțiunea de profilaxie să devină practic fără obiect. Cu toate acestea o profilaxie este posibilă în cancer și ea urmărește mai multe etape ale evoluției naturale a bolii canceroase.

Se știe astfel că înaintea apariției leziunii maligne se desfășoară un proces îndelungat de „cancerizare”, care face trecerea de la țesutul sănătos la cel canceros. Pentru din ce în ce mai numeroase localizări ale cancerului aceste etape intermediare în procesul carcinogenetic au fost deja bine codificate și au fost denumite *stări precanceroase*. Depistarea și tratamentul acestor stări precanceroase, lucru astăzi perfect posibil în mai multe localizări neoplazice, înseamnă de fapt prevenirea apariției cancerului; este una din modalitățile

aşa-zisei *profilaxii primare* şi reprezintă principala verigă a luptei anticanceroase.

Odată leziunea malignă apărută, obiectul profilaxiei este descoperirea acesteia într-o fază cât mai incipientă posibil, când este perfect curabilă, în scopul prevenirii evoluţiei ei spre fazele incurabile; este ceea ce se numeşte *profilaxia secundară*. Aceasta reprezintă suportul teoretic al marilor acţiuni de masă pentru depistarea precoce a cancerului.

Se mai vorbeşte apoi de o *profilaxie terţiară*, care se referă la diagnosticul precoce al recidivelor şi metastazelor, când, printr-un tratament eficient se mai poate spera uneori într-o vindecare a bolii.

Aşadar, conceptul actual mult mai larg de profilaxie a cancerului surprinde mai multe „momente” de interferenţă în evoluţia bolii, începând cu depistarea şi îndepărtarea agenţilor cancerigeni (cunoscuţi), ca şi a stărilor de boală care premere apariţiei cancerului (profilaxie primară), diagnosticul precoce al neoplaziei constituite pentru prevenirea trecerii bolii într-o fază incurabilă (profilaxie secundară) şi diagnosticul precoce şi tratarea recidivelor şi metastazelor când o vindecare mai este încă posibilă (profilaxie terţiară).

Un asemenea înţeles al noţiunii de profilaxie se suprapune de fapt cu principalele obiective ale luptei anticanceroase, de la depistare la diagnostic şi apoi la tratament, iar prezentarea tuturor acestor aspecte ar depăşi cu mult cadrul acestui capitol. În cele ce urmează ne vom limita doar la susţinerea ideii de profilaxie în cancer prin trecerea în revistă, cu exemplificări, a principalelor cunoştinţe din domeniul profilaxiei primare şi secundare, în măsura în care acestea au însemnat şi un important pas înainte în cunoaşterea biologiei bolii canceroase, şi mai ales în practica depistării şi diagnosticului precoce.

În domeniul profilaxiei cancerului ştiinţa medicală românească a înscris pagini memorabile, deschizătoare de drum. Amintim astfel marea personalitate a lui Victor Babeş, unul din promotorii noţiunii de precancer, pe care a folosit-o prima dată în 1879. El a abordat profilaxia cancerului în însuşi miezul ei când susţinea că: ... „în prevenirea cancerului, tocmai stările precanceroase trebuie cunoscute, depistate şi combătute”, sau în altă ordine de idei, că apariţia precancerului şi a cancerului este urmarea unei anumite „predispoziţii”, noţiune care poartă în germen factorul genetic, căruia i se acordă astăzi un loc din ce în ce mai important în oncogeneză.

Amintim apoi pe Aurel Babeş şi C. Daniel, adevăraţii părinţi ai citologiei exfoliative, care au demonstrat „posibilitatea diagnosticului cancerului uterin prin frotiuri” (1927), oferind astfel practicii una din principalele arme ale depistării stărilor precanceroase şi cancerelor incipiente ale colului uterin (deci ale profilaxiei acestei teribile îmbolnăviri neoplazice ale sferei genitale feminine). De fapt testul citologic, care a devenit ulterior unul din cele mai valoroase teste de depistare în masă pentru mai multe localizări ale cancerului, reprezintă în acelaşi timp şi unul din cele mai eficiente instrumente ale profilaxiei oncologice.

În sfârşit, dar nu şi în cele din urmă, amintim „viziunea” înaintată, novatoare a lui Iuliu Moldovan, care în anul 1929, înfiinţează la Cluj, primul institut oncologic din lume care îşi propune: „Profilaxia şi studiul cancerului”, într-un moment în care noţiunea de profilaxie, departe de-a fi fost bine cunoscută chiar pentru bolile transmisibile, era practic total necunoscută pentru cancer.

Menționăm și contribuția medicului D. C. Georgescu (începînd din 1948), care subliniază faptul că pentru a se obține rezultate, profilaxia cancerului trebuie organizată temeinic.

Avînd mereu în minte imaginea acestor mari personalități, nu numai că le aducem un binemeritat omagiu, dar conferim valoare de simbol, de fir roșu, ideii lor, că profilaxia, în sensul celor expuse anterior este elementul pivot al întregii lupte anticanceroase.

32.2.

Unele aspecte ale profilaxiei primare a cancerului

Așa cum am arătat, principala modalitate de a preveni apariția cancerului este depistarea și asanarea factorilor care duc la transformarea malignă a țesutului sănătos. Aceasta presupune pe de o parte o „inventariere” perfectă a cauzelor, deci cunoașterea etiologiei și pe de altă parte, cunoașterea mecanismelor procesului carcinogenetic.

Trebuie să recunoaștem că sîntem încă departe de a cunoaște toți factorii etiologici (carcinogeni), de a cunoaște în amănunțime mecanismele care contribuie la apariția neoplaziei, și atunci se pune în mod firesc întrebarea dacă în aceste condiții este posibilă o profilaxie primară. Răspunsul este categoric da, cu rezerva că acest lucru este valabil în prezent numai pentru unele localizări neoplazice. Însă pe măsura acumulării de noi cunoștințe etiopatogenice, sfera de cuprindere a profilaxiei primare se va lărgi neîncetat; din acest punct de vedere considerăm că problemele de profilaxie constituie unul din principalele obiective ale oncologiei viitorului.

Întrebarea care se pune în prezent pentru practică este: ce putem face, și ce nu putem face pentru a împiedica saltul de la normal la patologic, de la celula sănătoasă la cea malignă?

Calea de demonstrare pe care am ales-o este urmărirea lanțului fizio-patologic al trecerii de la celula normală la celula canceroasă, analizînd re-leul unde putem acționa în mod eficient pentru a întrerupe procesul cancerizării.

Din ce în ce mai mulți autori (Boyd, Burnett, Bauer) sînt de acord că boala canceroasă este o boală moleculară și că saltul de la normal la cancerizare este efectul unei mutații. Sub acțiunea factorilor nocivi din ce în ce mai numeroși din mediul extern (în cazul nostru „cancerigenii”), care pot fi chimici, fizici și biologici, zilnic apar în organismul uman circa un milion de celule mutante, din care unele pot să ia calea malignizării.

De ce nu fac toți indivizii cancer? Organismul care își păstrează intact aparatul imun are capacitatea de a identifica la timp aceste celule mutante, care au o configurație antigenică diferită de restul celulelor normale și de a le distruge și îndepărta, înainte ca acestea să se poată multiplica.

În lumina acestei concepții (Burnett, Prehn) cancerul ar apărea numai în cazul cînd controlul imunologic al organismului ar deveni deficitar. Astfel, Allison de la Bethesda (SUA) a studiat reacția existentă între apariția cancerului și substanțele care reprimă imunitatea (serul antilinfocitar, imuranul și alte imunodepresive). Animalele tratate cu imunodepresivi fac mai frecvent cancere sau leucemii.

Cercetări pe care le-am făcut împreună cu T. Mureșan, C. Todoruțiu, R. Rîșcă și R. Mulea (1971) au arătat că metastazarea poate fi diminuată substanțial la animalele (șobolan, șoarece) cu sistemul macrofagic (SRH) bine stimulat, fapt care echivalează cu o creștere a rezistenței imunologice. Metastazarea scade impresionant dacă pe lângă stimularea SRH se asociază și heparină, care împiedică formarea cheagului în jurul celulelor canceroase (proces prin care începe metastazarea), le obligă să circule mai mult timp prin organele cu SRH stimulat și pot fi distruse.

Lee, Clark, Halpern ș. a. se întreabă dacă nu cumva la toți oamenii pot să apară de mai multe ori în viață microfocare canceroase. De fapt la majoritatea indivizilor cu un aparat imunologic competent, aceste celule mutante cu „alterații cromozomiale” sau cu „gene defectuoase”, candidate la cancerizare, sînt jugulate „în fașă” datorită „funcției de supraveghere” exercitată de factori de natură imună.

În lumina acestor date înțelegem mai bine de ce cancerul poate să apară mai frecvent la vîrstnici, la care capacitatea celulelor de a suferi mutații este mai crescută, iar aparatul imunitar devine mai inefficient pe măsura îmbătrînirii.

Din cele arătate rezultă că în geneza cancerului concură pe de o parte o multitudine de factori, ai mediului extern și intern, iar pe de altă parte o deprimare a proceselor imunologice ale organismului. O încercare de sistematizare a acestor factori carcinogeni este arbitrară, pentru că ei se interferează pe multiple planuri, dar devine necesară, pentru simplificarea expunerii.

- I. *Factori extrinseci*
 - poluarea
 - chimică
 - fizică
 - biologică
 - virusurile cancerigene, cocancerigene
 - alimentația
- II. *Factori intrinseci*
 - genetici, familiali
 - imunitatea
 - metabolisme viciate
 - hormoni
 - psihici (psihici — emoționali)

În cele ce urmează vom încerca să analizăm modul în care se poate acționa pentru a împiedica desfășurarea lanțului de fenomene patogenice, deci pentru a face profilaxia procesului canceros, începînd cu factorii extrinseci, cei mai numeroși, cu pondere în continuă creștere, și care pot fi influențați într-o mai mare măsură în profilaxia cancerului.

32.2.1.

Factorii etiologici extrinseci și profilaxia primară

Din factorii etiologici cunoscuți ai cancerului, imensa majoritate sînt din afara organismului și pot fi împărțiți în factori de mediu (poluanți chimici, fizici și biologici), virusuri și alimentație. Ca și în cazul factorilor intrinseci și cei extrinseci se întrepătrund, se condiționează reciproc, acționînd fie direct (carcinogeni), fie indirect, ca favorizanți ai efectului celor dintîi (cocarcinogeni). Din motive de sistematizare vor fi prezentați separat, în funcție de cele trei categorii enunțate, dar trebuie să se aibă mereu în vedere că acționează grupat, complex, cancerul fiind prin excelență o boală polietologică.

Dezvoltarea civilizației moderne, mai ales a industriei, dar și a agriculturii și a mijloacelor de transport, a făcut ca mediul înconjurător, aerul atmosferic, apa, solul, într-un cuvânt tot ceea ce ne înconjură să fie mereu mai poluate. Studiul poluării chimice a devenit o problemă majoră de sănătate publică, pentru că:

- se știe astăzi că majoritatea cancerelor umane sînt provocate de acțiunea factorilor de mediu. Higginson (1977) afirmă că o proporție de 80% din etiologia cancerului este legată de substanțele cancerigene din mediu;
- mortalitatea prin cancer este proporțională cu gradul de poluare;
- dezvoltarea impetuoasă a civilizației face ca anual să apară mii de substanțe noi, care poluează mediul (numai în SUA, cel puțin 300 de substanțe noi se răspîndesc în atmosferă, din care multe s-au dovedit potențial cancerigene).

Față de această adevărată avalanșă de poluanți chimici, FAO (organism al OMS) întocmește periodic tabele de substanțe cancerigene din mediul ambiant cu recomandarea să fie scoase din uz (dacă este posibil) sau să se ia măsuri de protecție, în cazul cînd utilizarea lor este indispensabilă (fie ca produși finiți, fie ca produși intermediari în diferite procese de fabricație). Cu toate acestea există sute de substanțe cancerigene folosite în industrie, agricultură și transport, care ajung inevitabil în aerul atmosferic, apă, alimente etc. Semnalăm unele din aceste substanțe, fără pretenția unei sistematizări chimice, ci doar cu scop informativ, pentru a arăta amploarea acestei probleme.

a. Compuși ai metalelor și semimetalelor: Cadmiul, Nichelul, Oxidul de Fe, Cromul și compușii săi anorganici, Arsenul și compușii arsenici anorganici, Plumbul și sărurile de plumb, Beriliul și compușii lui.

b. Azbestul.

c. Hidrocarburi aromatice, policondensate (benzantracenul, benzofluorantenul, benzopirenul, dibenzantracenul, dibenzopirenul).

d. Coloranți organici și compuși intermediari în fabricarea coloranților (azobenzenul, aminoazobenzenul).

e. Compuși N-nitro (nitrozaminele).

f. Ierbicide, pesticide, fungicide, unele medicamente (citostaticele).

Așa cum am arătat, aceste substanțe nu apar numai în diferite procese de producție (unde în majoritatea cazurilor sînt inevitabile, dar sînt posibile măsuri eficace de protecție), ci ajung să se răspîndească în mediul înconjurător: apă, aer, sol, alimente, unde protecția împotriva lor este aproape imposibilă.

Astfel, în aerul atmosferic pot să apară numeroase substanțe chimice, care s-au dovedit cancerigene, cocancerigene sau mutagene.

Vom enumera cîteva din acestea, detaliind unele aspecte:

— *compușii nitroși*. Importanța biologică a bioxidului de azot rezultă din calitatea de radical liber, precursor în formarea acidului azotos și nitrililor și ca agent oxidant. Astfel s-a arătat că un amestec echimolecular de bioxid de azot și oxid de azot este capabil să nitrozeze amine secundare și terțiare, ducînd la formarea nitrozaminelor, puternic cancerigene;

— *aldehidele* (formaldehida, aldehidele polinucleare). Astfel, aldehidele nesaturate, prezente în rumegușul și fumul de lemn, au fost implicate în geneza unor cancere nazale descoperite la muncitorii forestieri;

— *compușii organici halogenați* (tetraclorura de carbon, clorura de vinil);

— *aminele aromatice*;

— *dihidrocarburi aromatice policiclice* (majoritatea substanțelor puternic cancerigene fac parte din acest grup).

În apă au fost identificate:

— *nitrozamine*,

— *micotoxine*,

— *hidrocarburi și derivați*. În 1970, Blum aprecia că anual sînt deversate în mări și oceane 5–10⁶ tone de petrol brut și hidrocarburi, care se acumulează în organismele animalelor marine și prin intermediul lanțului nutrițional, ajung în alimentația omului;

— *pesticide*,

— *substanțe minerale și metale grele*.

Din apă, sol sau din procesul de conservare și preparare, numeroase substanțe cancerigene ajung în *alimente*. Cităm un exemplu clasic: prin afumare, procedeul larg utilizat pentru conservarea alimentelor (carne de porc, pește, mezeluri, brînzeturi) rezultă mai multe hidrocarburi cancerigene (în special benzpiren), care se corelează cu incidența crescută a cancerului gastric în Islanda, Scandinavia, Japonia (consum masiv de pește afumat). Prin contrast, în America de Nord se constată după anii '30 o scădere continuă a incidenței cancerului gastric, care a evoluat paralel cu înlocuirea conservării chimice sau prin afumare, cu refrigerarea. Și în țara noastră, aria consumului ridicat de „afumături” se suprapune cu zona incidenței maxime a cancerului gastric (județele din nordul și vestul țării).

Șirul exemplificărilor privind rolul carcinogenilor chimici din mediul ambiant ar putea să continue la nesfîrșit. Ceea ce ne interesează în contextul acestui capitol, sînt măsurile de profilaxie care pot fi luate în această direcție. Profilaxia împotriva carcinogenilor chimici este unul din domeniile cele mai fertile ale profilaxiei primare anticanceroase. Măsurile care se iau în această direcție urmăresc aproape toate domeniile în care o „contaminare” chimică carcinogenă este posibilă: industrie, transport, mediul ambiant (apă, aer, sol), agricultură și industrie alimentară. În legislația sanitară a tuturor statelor există norme foarte precise, care urmăresc să reducă la minimum expunerea la carcinogenii chimici atît în cadrul igienei colectivităților, cît și a celei personale. În situația cînd înlocuirea din procesul de producție a unor substanțe foarte nocive nu este posibilă (tehnologic vorbind), se iau măsuri de protecție deosebit de atente. Evident, avînd în vedere varietatea enormă de carcinogeni chimici din mediul ambiant, fiecare cu o poartă de intrare, mecanism de acțiune, și organ-țintă specifice, măsurile profilactice, pe lîngă cele cu caracter general, îmbracă adesea și ele un caracter specific, individualizat. Astfel, spre exemplu, din coloranții azoici, cel mai cancerigen este galbenul de unt (4-dimetil-amino-azobenzenul) (DAB). Mult folosit odinioară drept colorant alimentar (ca înlocuitor al șofranului) la prepararea prăjiturilor, bomboanelor, colorarea untului, margarinei, în prezent este interzis prin lege, pentru că s-a dovedit a fi un puternic cancerigen hepatic; mai este folosit numai în industria coloranților nealimentari (lacuri, ceruri, creme etc.).

Un alt exemplu îl constituie hidrocarburi cancerigene existente în gudroanele rezultate din arderea tutunului. În prezent toată lumea este de acord

că fumatul este un puternic factor cancerigen pulmonar (Doll), cancerul pulmonar fiind de 20 de ori mai frecvent la marii fumători, decît le nefumători. Măsurile de profilaxie în această privință au mers pe două direcții: descurajarea obiceiului de a fuma și reducerea conținutului de hidrocarburi cancerigene al tutunului și hîrtiei de țigaretă prin introducerea de filtre, sau înlocuirea metodei de fumat (pipă în loc de țigaretă).

Desigur, în etiologia cancerului pulmonar sînt incriminați și alți carcinogeni exogeni (fumul industrial, poluarea atmosferică în general) și endogeni (unii hormoni sexuali), astfel că măsurile de profilaxie trebuie să urmărească un evantai mult mai mare de factori; însă chiar și numai suprimarea unui singur factor (fumatul) din acest complex polietologic al cancerului pulmonar s-a dovedit suficient de eficace*.

În concluzie, poluarea chimică este responsabilă pentru inducerea unui număr important de cancere umane. Aproximativ 1% din cancere sînt de tip „profesional”, unde agentul cauzal, de cele mai multe ori chimic, este bine cunoscut și unde s-au elaborat și norme exacte de protecție pentru prevenirea îmbolnăvirii. În marea majoritate a cazurilor poluarea chimică este complexă, cuprinzînd un număr important de carcinogeni care își însumează acțiunea, se condiționează reciproc și se interferează cu acțiunea celorlalte verigi ale procesului carcinogenetic (alți factori extrinseci sau intrinseci). În aceste condiții, unor măsuri de profilaxie de ordin general li se asociază măsuri speciale, urmărind carcinogenii care au fost eventual identificați în cadrul complexului de factori nocivi. Acesta este un proces mai simplu cînd este vorba de carcinogeni chimici cunoscuți, care apar în anumite industrii și care acționează asupra unei anumite colectivități limitate, dar mult mai complicat cînd este vorba de poluarea atmosferei, apei, sau solului, deci cînd este cuprinsă o masă mare de populație, iar carcinogenii sînt mai puțin cunoscuți.

33.2.1.1.2.

Poluarea fizică

Radiațiile ionizante sînt evident cancerigene prin efectul lor mutagen. În prezent se pune deschis în discuție pericolul creat prin creșterea fondului de radiații pe care-l primește individul modern pe toată durata vieții sale, fapt răspunzător în parte de creșterea incidenței cancerului. De exemplu, în SUA, în ultimii ani doza de raze X a crescut pentru fiecare locuitor, de la 15 mrad la 152 mrad (Șt. Milcu, Schmitzer, 1964). De asemenea se constată că iradierea artificială primită de fiecare individ din SUA, pe durata unei generații, a devenit egală cu iradierea naturală. Din doza de iradiere artificială pe care o primește populația americană, 70—90% sînt consecința abuzului de examene radiologice întîlnit în practica medicală.

Măsurile de profilaxie urmăresc tocmai abuzul de examinări care folosesc radiații ionizante, pentru că fondul cosmic nu poate fi influențat.

În această direcție menționăm două categorii de măsuri:

— reducerea examinărilor radiologice la minimum necesar, sau înlocuirea lor cu alte tehnici de investigație care nu folosesc radiații ionizante: ecografie, termografie,

* Pentru aprofundare recomandăm consultarea capitolului: „Substanțele cancerigene din tutun și produsele de tutun”, din vol. 5 al Enciclopediei oncologice — Cancerul și mediul ambiant — 1980, editat de Inst. oncol. Cluj-Napoca, sub red. Prof. I. Chirileuță.

— îmbunătățirea aparaturii cu micșorarea dozelor, a duratei de expunere etc.

Pentru categoriile de personal muncitor care lucrează nemijlocit cu radiații, medici, radiotehnicieni, personal muncitor din centralele atomoelectrice, din întreprinderi producătoare de izotopi stabili, institute de fizică a radiațiilor, măsurile de profilaxie privesc în primul rând procesul tehnologic (măsurile de ordin general), precum și măsuri speciale individuale de ordin igienic-sanitar.

32.2.1.1.3.

Poluarea biologică

Poluarea biologică se referă la rolul carcinogen posibil al unor bacterii, paraziți și ciuperci. Desigur, din această grupă de agenți fac parte și virusurile, dar acestea, prin locul important pe care îl ocupă în procesul carcinogenetic vor beneficia de un subcapitol aparte.

a. Rolul posibil al bacteriilor în etiologia cancerului. Ca factor cancerigen direct, a fost pînă în prezent incriminat un singur grup de bacterii (corynebacterii anaerobe) care induc histioreticuloza gravă (boala Whipple) (Prévot și colab. — 1967, citat de Imreh, 1980).

În schimb, în ultimii ani, unele cercetări (Bittner, 1977) au atribuit unor bacterii un rol indirect cancerigen. Astfel, s-a constatat că incidența cancerului colonului este semnificativ mai mare la populațiile a căror alimentație este bogată în proteine și grăsimi animale (Hill și Drasser, 1974), ceea ce ar determina preponderența în intestin a unei flore bacteriene capabilă să descompună aceste substanțe, dînd naștere la derivați cancerigeni sau precursori ai acestora: acizi biliari, colesterol. S-a constatat astfel că la populațiile cu incidența scăzută a cancerului colic se găsesc un număr mai mic de bacili Gram-negativi anaerobi nesporulați (grupul bacteroides) și un număr mai mare de enterococi. Autorii citați au reușit să sintetizeze un compus aromatic policiclic cancerigen din steroizii biliari sub acțiunea germenilor de tipul *Bacteroides fragilis*, *Clostridium paraputrificum* și *Clostridium butyricum*, toți anaerobi.

Elementele de profilaxie rezultă din însuși mecanismul de acțiune incriminat: schimbarea regimului alimentar cu o distribuție mai rațională a proteinelor animale și vegetale și reducerea grăsimilor, precum și studiul biocenozelor florei intestinale, cu modificarea ei printr-o medicație corespunzătoare.

Cercetările privind rolul oncogen posibil al unor bacterii au ținut și alte localizări neoplazice; de exemplu germenii din ordinul mycoplasmatales, agentul PPL (pleuro-pneumonia-like), chiar gonococul, pentru cancerul colului uterin, unde acestora li s-a atribuit doar valoarea de indicatori ai „poluării sexuale” sau cel mult un efect cocarcinogen.

Fără îndoială, că cercetările viitoare vor mai pune în evidență și alți carcinogeni (sau cocarcinogeni) bacterieni, de unde ar rezulta și unele măsuri profilactice specifice.

b. Rolul posibil al unor paraziți în etiologia cancerului. Arătînd că pînă aproape de al doilea război mondial a existat o ipoteză parazitară a cancerului, înțelegem de ce aproape fiecare protozoar sau helminț a fost

bănuie că este un posibil agent carcinogen. În marea majoritate a cazurilor această ipoteză a fost infirmată, dar există unele situații în care corelația parazit-cancer se sprijină pe dovezi irefutabile (Bocșan, 1980).

Protozoarele. Au fost descrise cancere rectale la subiecți infestați cu *Entamoeba dysenteriae*, dar asocierea poate fi doar o coincidență.

Helminții. Numeroși autori au semnalat cancere hepatice primitive la subiecții infestați cu distomieni: *Fasciola hepatica*, *Clonorchis sinensis* și *Opisthorchis felinaeus*, mai ales la populația din Asia de Sud-Est, Coreea și Japonia, dar cancerul hepato-celular apare și în zone geografice unde acești paraziți lipsesc.

Este de asemenea de mult cunoscut cancerul vezical întâlnit la populația din Egipt și țările învecinate, având ca agent etiologic bilharzioza (*Schistosoma haematobium*) deși există multe aspecte încă neelucidate privind această corelație.

Au mai fost descrise cancere de rect și de prostată corelate cu alte schistosome (*mansoni*, *japonicum*), dar mai ales pe cazuri izolate.

Mecanismul cancerogenezei este incomplet elucidat. Se pare că paraziții exercită o acțiune iritativă-inflamatorie și toxică, într-un mod asemănător cu substanțele chimice ca de exemplu gudroanele, dar cu excepția cancerului vezicii urinare care se corelează direct cu schistosomiata urinară, în marea majoritate a cazurilor paraziții par să joace doar un rol favorizant, sau este vorba de o simplă asociere morbidă. În fața acestei situații, nu poate fi vorba despre o profilaxie eficientă a cancerului legat de o posibilă etiologie parazitară.

Ciupercile. Interesul privind rolul cancerigen al unor fungi se leagă de micotoxinele eliberate de ciuperca (mucegaiul) *Aspergillus flavus*, care se dezvoltă pe unele alimente și furaje și care s-au dovedit la mai multe specii de animale intens hepatocancerigene. Aflatoxinele izolate din acest mușcăi au fost semnalate pentru prima dată de Lancaster și colab. (1961) în făina de arahide; ele au indus hepatoame maligne la șobolani, dar ulterior s-a demonstrat hepatocarcinogenitatea și la unele păsări, pești și mamifere. Abia după un deceniu, Albert (1971) aduce argumente epidemiologice mai precise privind asocierea posibilă a hepatomului cu alimentele contaminate cu aflatoxine la unele populații africane (Uganda). Chiar dacă în prezent sînt necesare unele dovezi pentru demonstrarea efectului cancerigen al aflatoxinelor la om, distribuția hepatomului pe o arie geografică în care unele alimente de bază sînt contaminate cu acest mușcăi impune unele măsuri de profilaxie, care au și început să fie aplicate sub egida OMS.

32.2.1.2.

Virusurile*

Deja primele cercetări oncologice au emis ipoteza unei etiologii virotice a cancerului și de aici perspectiva plină de speranțe a unei vaccino-profilaxii antineoplazice. Eșecurile repetate de a transmite boala prin filtre acelulare a determinat abandonarea pentru un timp a teoriilor privind etiologia virotică a tumorilor. Totuși Ellermann și Bang au reușit în 1908 să

* Pentru aprofundare se recomandă consultarea capitolului corespunzător din acest volum.

transmită leucemia puilor de găină prin filtre acelulare, iar în 1911 Peyton și Rous reușesc să dovedească originea virotică a sarcomului aviar. Ulterior au fost izolate numeroase virusuri oncogene, la cele mai variate specii de animale, dar mecanismele cancerizării sînt departe de a fi elucidate. Din virusurile oncogene, doar două grupuri se corelează etiologic cu cancerul uman: herpesvirusurile și oncornavirusurile.

Herpesvirusurile. În 1964, Epstein și Barr au izolat dintr-un limfom Burkitt un herpesvirus, care s-a dovedit apoi atât epidemiologic, cât și experimental, că este agentul etiologic al acestui tip de limfom, chiar dacă pentru efectul cancerigen al acestuia este necesară prezența și a unor factori cocancerigeni (au fost incriminate malaria sau un oncornavirus).

Carcinomul nazo-faringian este o tumoare care survine pe o arie geografică limitată la Asia de Sud-Est și este legat tot de prezența virusurilor Epstein-Barr, care acționează împreună cu unii cofactori incomplet elucidați. În această formă de cancer se pare că intervine de asemenea o perturbare a imunității, deoarece acesta se însoțește adesea de boli autoimune.

Un interes deosebit l-au suscitat cercetările din ultimul deceniu, care corelează *cancerul colului uterin* cu virusul herpetic simplex tip II (genital). În această direcție au fost aduse dovezi sero-epidemiologice, citogenetice și experimentale. Aprecierea exactă a rolului HSV—II mai este încă cercetată. În cazul cancerului colului uterin se pare că mai intervin de asemenea condiții favorizante și cocancerigeni care pot fi tot de natură virotică. Rotkin (1973) emite ipoteza carcinogenezei virotice multistadiale:

— *inițierea* carcinogenezei printr-un virus herpetic tip II implicat la femeie cu ocazia primelor contacte sexuale, avînd ca factor favorizant o maturare incompletă a epiteliului cervical (Munteanu, Chiricuță, 1980);

— *perioada de latență* în care leziunile sînt staționare, involuează (încetarea acțiunii virusului, maturarea sexuală, tratament), sau evoluează lent, progresiv. Această perioadă, care se întinde pe o durată de 10—20 de ani, se caracterizează din punct de vedere histopatologic prin persistența și agravarea displaziilor cervicale pînă la carcinomul intraepitelial;

— *cancerizarea* propriu-zisă, care marchează ireversibilitatea procesului și apariția caracterului invaziv al neoplaziei, s-ar realiza printr-un *factor promotor*, care ar putea fi tot virotic.

Acest exemplu de oncogeneză virotică se pretează perfect la demonstrarea unor măsuri active de profilaxie primară și secundară. Chiar dacă în prezent nu dispunem de o medicație eficientă antivirotică (în special de un vaccin antiherpetic), totuși măsurile cunoscute de igienă sexuală care ținesc de combaterea poluării sexuale (debutul prea timpuriu al vieții sexuale, partenerii multipli, abuzurile sexuale de orice fel) reprezintă modalități eficiente de profilaxie primară. Depistarea precoce a colului lezional, chiar de la vârste tinere, folosind orice prilej oferit de o consultație ginecologică sau prin acțiuni de depistare în masă, reprezintă de asemenea o modalitate majoră de profilaxie primară. Aceste aspecte vor fi reluate pe larg mai încolo.

— *Oncornavirusurile tip C.* Au fost puse în evidență în numeroase sarcoame și leucemii, la cele mai diferite specii de animale, precum și la om, într-un mare număr de limfoame, boala Hodgkin, limfosarcoame, sarcoame, uneori asociat cu herpesvirusuri. Rolul lor în oncogeneza umană mai rămîne încă să fie dovedit.

— *Alte virusuri.* Virusurile Papova umane (BK și JC) au fost puse în legătură cu unele tumori ale SNC sau renale, iar virusul hepatitei cu hepatomul malign; foarte recent, Meisels, Reid, Purola ș.a. incriminează virusul condilomatozei, tot din grupa Papova, în geneza cancerului colului uterin.

Aceste corelații etiologice nu sînt încă suficient argumentate (mai probabil că intervin cofactori, cum sînt cei genetici, imunologici, hormonal), iar posibilități de profilaxie nu pot fi luate în considerație.

În concluzie, considerăm că virusurile par să aibă un rol important în etiologia cel puțin a unora din cancerurile umane, dar că o profilaxie eficientă nu va fi posibilă decît după ce se vor fi acumulat mai multe cunoștințe în acest domeniu și se vor fi pus la punct metode de imunoprofilaxie specifică.

32.2.1.3.

Alimentația

Importanța factorului alimentar în oncogeneză s-a întrevăzut deja din unele date prezentate anterior. Numeroase dovezi experimentale și epidemiologice atestă de fapt rolul evident al alimentației în oncogeneză, cu particularități în funcție de componența dietei și de specie (Chiricuță, 1980).

Studii moderne de epidemiologie au pus în evidență o relație incontestabilă între alimentație și cancer și în clinica umană. S-a constatat astfel că dieta poate influența carcinogeneza umană prin mai multe mecanisme (Lowenfels și colab., 1977):

- prin conținutul caloric al dietei. Toți autorii subliniază că mortalitatea prin cancer este semnificativ mai mare la populațiile supraponderale;

- prin raportul existent între principiile alimentare (proteine, grăsimi, glucide) mortalitatea prin cancer fiind direct proporțională cu numărul de calorii de origine lipidică;

- prin conținutul de fibre (vegetale) care ar exercita un efect protector împotriva cancerelor rectocolice;

- prin originea (animală sau vegetală) a alimentelor. Se atribuie azi dietei preponderent animală un rol în etiologia cancerelor tubului digestiv; de asemenea se corelează o dietă vegetală tradițională, din unele țări subdezvoltate africane, cu unele cancere recto-colice;

- prin prezența unor substanțe cancerigene legate de modul de preparare și conservare a alimentelor. S-au citat deja unii aditivi alimentari cancerigeni, aflatoxinele, nitrozaminele, ciclamații etc.;

- prin consumul de cancerigeni naturali existenți în însăși compoziția chimică a unor alimente;

- prin carența din alimentație a unor elemente chimice (oligoelemente, vitamine, aminoacizi esențiali);

- prin efectul nociv al anumitor obiceiuri (consumul de alcool, fumatul, consumul de alimente foarte fierbinți etc.);

Desigur, acolo unde corelarea dintre un factor alimentar și un anumit tip de cancer este indubitabil dovedită, — cităm spre exemplu alimentația bogată în afumături și cancerul gastric (Japonia, Islanda, Țările Scandinave) — sînt posibile măsuri eficiente de profilaxie; o dovedește acest lucru, scăderea progresivă a incidenței cancerului gastric în continentul Nord-Ameri-

can, o dată cu introducerea unei diete mai echilibrate între alimentele de proveniență animală, respectiv vegetală și folosirea pe scară largă a conservării prin frig (fig. 32.1).

Ideea unei diete protectoare ca mijloc de prevenire a cancerului este ispititoare, dar în practică este aproape imposibil de realizat. Un asemenea regim alimentar „ideal” a fost propus de Mittmann (1961), care a studiat

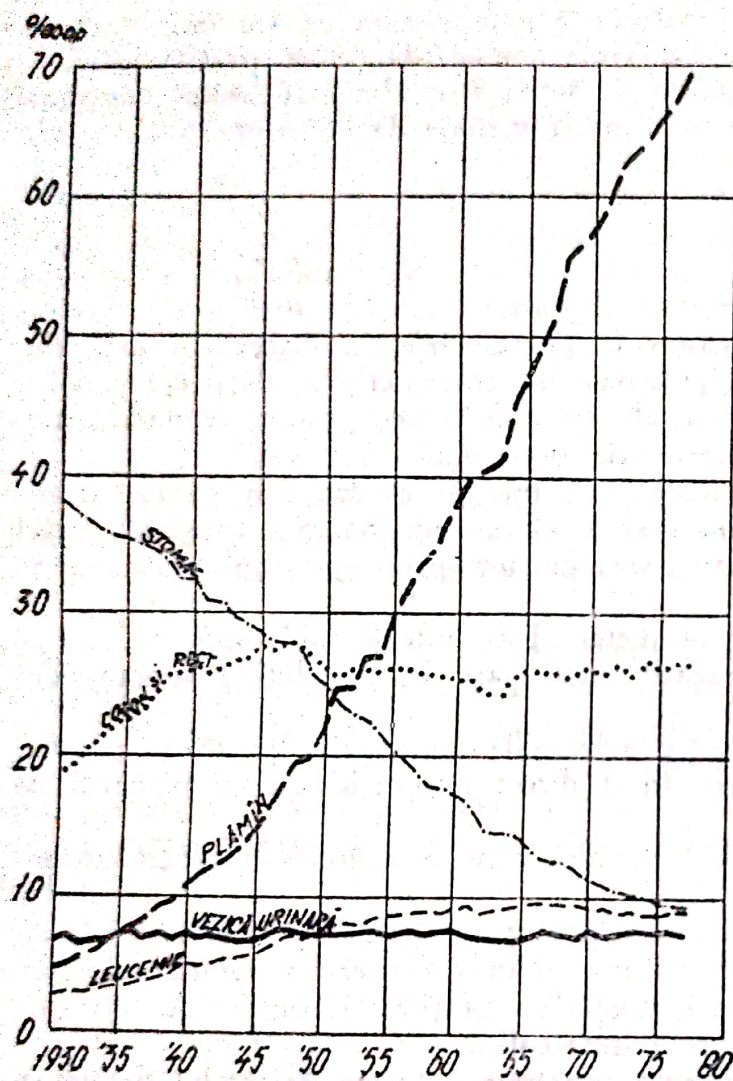


Fig. 32.1. — Rata mortalității prin cancer în unele localizări la bărbați, în SUA, 1930–1977.

(după E. SILVERBERG; *Cancer statistics*, 1982)

mortalitatea prin cancer într-un număr de țări atât cu incidență foarte ridicată, cât și cu incidență scăzută, pe care a corelat-o cu anumite obiceiuri alimentare. Această dietă ar conține 74,6% glucide, 13,3% proteine și 12,1% grăsimi în cadrul unui regim strict normocaloric.

În concluzie, factorul alimentar în oncogeneză deși se sprijină pe unele argumente epidemiologice și experimentale indubitabile, nu ne poate oferi o bază practică pentru profilaxie, care cu mici excepții se reduce doar la măsuri de ordin general. Pentru situații mai particulare, ca de exemplu inducerea unor cancere prin contaminarea alimentelor cu anumite toxine (aflatoxine, nitrozamine, hidrocarburi cancerigene, sau orice poluant din

mediul înconjurător), unele măsuri specifice de profilaxie primară sînt posibile, chiar dacă acestea se leagă încă de numeroase necunoscute teoretice și dificultăți practice.

32.2.2.

Factorii etiologici intrinseci și profilaxia primară

32.2.2.1.

Factorul genetic

Studiile de „geografie a cancerului” au arătat diferențe marcate de incidență a diferitelor localizări neoplazice pe zone geografice și unul din primii factori invocați a fost cel genetic.

Unul din exemplele „clasice” în această direcție este incidența crescută a cancerului gastric la populația japoneză, în raport cu populația albă a SUA sau din contra, incidența scăzută a cancerului mamar, în ambele cazuri invocîndu-se o predispoziție genetică. De la început trebuie arătat că nu este vorba de o transmitere ereditară (excepție face doar retinoblastomul), ci de o structură genetică labilă, care ar fi predispusă mai frecvent la cancerizare (vezi capitolele de epidemiologie și genetică).

Tot pentru existența unui factor genetic au pledat studiile care au corelat unele localizări neoplazice cu o frecvență mai ridicată (sau mai scăzută) a grupei sanguine; cităm de exemplu studiul lui Helmbold (1961), care a urmărit 13 310 femei cu cancer al colului uterin și un lot egal de martore, stabilind o legătură semnificativă cu grupa sanguină A(II), fapt confirmat de Majumuria și colab. (1966), dar nu și de Rotkin (1966). O corelație asemănătoare cu grupa A(II) a fost constatată și în cancerul mamar, iar Anderson (1972) și alții găsesc o frecvență crescută a fenotipului SS din sistemul antigenic S. S-a mai comunicat în cancerul mamar o frecvență crescută a antigenului HL—A (Patel și colab., 1971), dar aceste date nu au fost confirmate.

Numeroase studii (mai vechi de un secol) atrag atenția asupra aglomerării unor cazuri de cancer (de o anumită localizare sau un grupaj anumit de localizări) în unele familii (așa-numitul „sindrom al cancerului familial” descris de Lynch, 1967, 1971, 1974.). Alți autori au descris tendința generală spre un număr crescut de cancere de toate felurile la anumite familii. Se cunosc astfel de studii de cancer familial, mai ales pentru neoplasmul gastric, mamar, de endometru sau chiar al colului uterin.

Se citează familia lui Napoleon, unde din 11 membri urmăriți (bunic, părinți, 7 frați și surori) 9 au murit de cancer gastric, inclusiv Napoleon*; singurii care nu s-au îmbolnăvit au fost mama lui și fratele mai mic, Louis.

Un argument sigur în favoarea rolului unui factor genetic este compararea concordanței sau discordanței la gemenii mono- sau bizi-goți. Hestor (citată de Vakil, 1973) a raportat că diferitele tulpini de șoareci sînt susceptibile la anumite feluri de tumori mamare, indicînd existența unui factor moștenit. Mai este posibil și ca dezvoltarea tumorilor la organe diferite ale aceluiași sistem fiziologic să aibă o bază genetică comună.

* Intoxicația cronică cu arsenic încă nu a fost dovedită.

Trei factori care se interferează în carcinogeneza mamară la șoareci, agentul carcinogenetic, susceptibilitatea moștenită și factorul hormonal, toți sînt sub influență genetică. Aceste observații experimentale au stimulat numeroase studii de genealogii la probanți cu cancer mamar și toate au raportat o frecvență crescută la grupele cu cancer familial în raport cu cancerul nefamilial (Vakil, Morgan, 1973). Astfel, la bolnavii cu ereditate încărcată de cancer mamar, cancerul sînului ar apărea semnificativ mai curînd (cu 4—12 ani) decît cancerul considerat „nefamilial”. Anderson (1972) mai găsește apoi:

- rudele de gradul I ale probanților cu cancer mamar prezintă un risc de 2—3 ori mai mare decît la o populație martor;
- riscul crește de la 1,8 la 3,1 ori la rudele bolnavilor la care diagnosticul a fost pus în premenopauză (nu și în postmenopauză);
- atunci cînd la probant cancerul este unilateral, riscul de cancer mamar la rudele de gradul I crește de 5 ori, iar cînd este bilateral și în premenopauză, riscul crește de 9 ori.

În altă ordine de idei, statisticile arată că ar exista o legătură și între vîrsta pe care o au mamele la nașterea viitoarelor bolnave cu cancer al sînului. Standfast afirmă că femeile cu cancer de sîn sînt mai frecvent născute din mame mai vîrstnice (35—40 de ani), în raport cu un lot de control, cu mame tinere (20—25 de ani).

Mai mult cu titlu de curiozitate amintim lucrările lui Matsunaga (citată de Vakil, 1973), care pune în legătură predispoziția pentru cancer mamar cu *tipul de cerumen* din canalul auditiv extern. Autorul citat a arătat că cerumenul survine sub două forme fenotipice — uscat și umed — calitatea lui fiind controlată de o singură pereche de gene, din care cea pentru fenotipul umed este dominantă. Petrakis (1971) a găsit o incidență crescută a mortalității prin cancer mamar în grupa celor cu genă dominantă de „tip umed”.

Este de asemenea foarte interesant studiul lui Bulbrook și colab. (1971), cunoscut sub denumirea de „experimentul Guernsey”. În acest studiu, la toate femeile între 30 și 55 de ani din insula Guernsey s-a determinat nivelul etiocolanolonei (catabolit al corticopurarenalei). Din cele aproximativ 5 000 de femei investigate, la 27 a apărut ulterior un cancer mamar. La marea majoritate a acestora s-au constatat niveluri scăzute ale excreției de etiocolanolonă și androsteronă, modificări care, au fost deja prezente, în unele cazuri chiar cu 9 ani înainte a primei manifestări clinice a bolii. Faptul că și surorile bolnavilor cu cancer mamar din această populație au avut o hiposecreție de androgeni la pubertate, incriminează participarea unui factor genetic (pe lîngă cel hormonal).

În leucemii, unele anomalii cromozomiale ereditare (trisomia mai ales) sînt frecvent întîlnite. La mongoloizi, riscul de leucemie acută, în raport cu populația generală este de 20—30 de ori mai mare; la progenii rezultați din pacienți mongoloizi riscul leucemiei este de asemenea foarte ridicat.

Potrivit ipotezei lui Boveri, cancerul este rezultatul unui dezechilibru cromozomial. Numeroase cercetări au fost consacrate studiului de cariotip în tumorile umane și stările lor precanceroase, în scopul verificării acestei ipoteze. Nici pînă astăzi autorii nu sînt de acord dacă modificările cromozomiale, unele cu caracter specific, descoperite în tumori și hemopatii maligne, sînt cauza transformării maligne sau doar un epifenomen al acesteia, dar în mod evident, aceste cercetări constituie un domeniu de avangardă al „geneticii oncologice”.

Numeroase studii de cariotip au fost consacrate spre exemplu *cancerului colului uterin*. Wakonig-Vaartaja (1965), Boddington (1965), Atkin (1966), Auersperg (1967), Richart (1969) și alții au pus în evidență, mai ales cu ajutorul tehnicii moderne a bandărilor, anomalii ale numărului de cromozomi și ale valorilor de ADN, existînd aproape totdeauna un grad de aneuploidie. Descoperirea unui mod aneuploid al distribuției cromozomiale și prezența unui cromozom marker Api ar reprezenta „stigmatul malignității” în aparatul genetic. Asemenea anomalii cromozomiale sînt prezente și la unele leziuni precursore ale cancerului invaziv, așa-zisa „neoplazie cervicală, intraepitelială” (CIN), mai ales la cele cu grad avansat de severitate: displazia agravată și cancerul intraepitelial (CIN gr. III). Proporția în care aceste anomalii ale cariotipului sînt prezente în stările precanceroase ale colului corespunde cu proporția general admisă, în care aceste leziuni evoluează spre un cancer invaziv. Aceasta înseamnă de fapt că punerea în evidență a anomaliilor cromozomiale caracteristice cancerului deja de la nivelul unor leziuni histologice premergătoare neoplasmului atestă caracterul acestora de veritabile stări precanceroase și potențialul lor ridicat de evoluție spre malignitate.

Aceste domenii de cercetare a geneticii, oferind posibilitatea descoperirii și asanării leziunilor care au „stigmatul malignității” la nivel cromozomial, deschid calea unor acțiuni practice, de profilaxie primară, care se exercită într-o perioadă a procesului de cancerizare aflat încă la nivel infrastructural.

Un alt exemplu de acest tip este oferit de cromozomul Philadelphia (Ph^1), descoperit în 1960 în celulele sangvine din leucemia mieloidă cronică, care se întâlnește la 90% din bolnavi și care poate fi considerat pe drept cuvînt ca marker al acestei îmbolnăviri, putînd fi folosit cu succes în susținerea diagnosticului.

Numeroase anomalii cromozomiale, mai mult sau mai puțin caracteristice, au fost puse în evidență și în alte hemopatii maligne și în mai toate tumorile solide umane.

Cromozomii markeri cu o morfologie aparte, extrem de variabili ca dimensiuni sau aspect, de la o tumoare la alta, denotă deplasări de mare amplitudine ale secvențelor de ADN din cromozomi. Aceasta ar putea altera mecanismul normal de reglare genetică a celulei, contribuind la comportamentul biologic autonom al tumorilor maligne. Studiile genetice de tipul celor menționate anterior sînt abia la început, dar prin implicațiile lor practice, constituie un domeniu foarte important al oncologiei de mîine.

Prezența factorului genetic în determinismul tumorilor umane poate fi demonstrată prin numeroase alte exemple, dar ceea ce interesează practic, este modul în care s-ar putea acționa asupra acestei verigi a carcinogenezei în vederea unei profilaxii eficiente. Din acest punct de vedere ne aflăm încă la început de drum, și este greu de afirmat ceva pozitiv.

O modalitate de acțiune este *folosirea reversorilor* (vezi capitolul corespunzător), capabili să oprească în evoluție procesul neoplazic și să readucă la normal (structural și funcțional) celulele maligne. Cercetările în acest domeniu se află abia la început, iar rezultate practice nu pot fi scontate în următorii cîțiva ani.

În schimb, un domeniu perfect abordabil este cel generat de studiile de epidemiologie, care au putut scoate în evidență un factor genetic de risc pentru anumite localizări neoplazice: ne referim la cancerul familial (gastric, mamar, de endometru etc.). În asemenea cazuri rudele apropiate, considerate ca avînd

un risc mult mai crescut decât un grup martor de a face același cancer sau o altă neoplazie, se constituie în așa-zisa populație de risc. La femeile avînd un risc crescut de cancer al sînului o ablație a glandei mamare (sub forma unei mastectomii subtegumentară) ar constitui o profilaxie primară eficientă.

Dintr-un alt exemplu, care privește prezența anomaliilor genetice, caracteristice cancerului încă de la nivelul stărilor precanceroase, rezultă o altă cale de profilaxie: depistarea în masă și asanarea acestor stări precanceroase. Este cazul citat, al colului uterin, care este valabil și pentru alte forme de cancer (de endometru, cutanat, rectal etc.).

Ca acțiuni care să cuprindă toate localizările neoplazice, măsurile profilactice ținînd factorul genetic rămîn încă foarte limitate și cu eficiență scăzută, dar din datele prezentate se constată că se întrevăd perspective interesante.

32.2.2.2.

Imunitatea

Importanța tulburărilor imunității în apariția și evoluția tumorilor nu este cazul să mai fie subliniată, aceste aspecte fiind dezbătute pe larg în capitolele corespunzătoare. Din aprofundarea lor se poate înțelege de ce imunoterapia, sau chiar imunoprofilaxia anticanceroasă prezintă încă atîtea necunoscute, încît aplicarea lor în practică este mai mult de domeniul viitorului.

Deși unele date experimentale au dovedit capacitatea imunoterapiei de a determina în anumite condiții regresivitatea tumorilor și metastazelor, sau chiar prevenirea apariției lor, rezultatele obținute în clinica umană sînt încă neconcludente.

Teoretic, imunoterapia tinde să acționeze favorabil asupra răspunsului imun al gazdei purtătoare de tumoare, față de antigenii tumorali, ceea ce presupune că celulele tumorale au un aparat antigenic, care să le identifice ca celulele diferite de cele ale organismului gazdă, că aceste antigene determină un răspuns imun, mediat celular sau umoral și că acest răspuns poate fi augmentat prin diferite mijloace în beneficiul bolnavului.

În etapa actuală a cunoștințelor de imunologie tumorală, despre o imunoprofilaxie primară nici nu poate fi vorba decât într-un sens foarte vag al cuvîntului; apariția cancerului fiind urmarea și a unei imunități deficitare, rezultă că totalitatea măsurilor igienic-sanitare în stare să amelioreze capacitatea de apărare a organismului constituie în același timp și o imunoprofilaxie anticanceroasă.

Pași mai eficienți au fost făcuți în domeniul imunoprofilaxiei secundare și anume încercările de prevenire a recidivelor și metastazelor, cînd imunoterapia este aplicată profilactic ca terapie adjuvantă, termen creat prin extrapolare, de la chimioterapia adjuvantă.

Southam (1976) este de părere că, sub formă de terapie adjuvantă, imunoterapia poate fi eficientă și în unele forme incipiente sau localizate ale cancerului sau în cazurile în care cea mai mare parte a tumorii a putut fi îndepărtată chirurgical sau prin radioterapie, rămînînd leziuni de mici dimensiuni, așa-zisa boală reziduală minimă.

Cunoștințele noastre asupra antigenelor tumorale înalt specifice pentru fiecare formă clinică de cancer, uneori chiar cu diferențe între tumoarea pri-

mitivă și metastaze, sînt cu mult prea incomplete pentru a ne permite prepararea unor *vaccinuri specifice antitumorale*, lipsite de pericolul inducerii unor fenomene de facilitare sau blocare imunologică, care să provoace tocmai efectul contrar celui dorit, stimularea creșterii tumorale. Au fost realizate totuși unele modele experimentale sau în clinica umană, de vaccinuri anticanceroase, dar rezultatele sînt total contradictorii.

Din aceste motive, în condițiile actuale sînt preferate metodele de *imunoterapie nespecifică* urmărind stimularea generală a capacității organismului de a reacționa față de antigenele tumorale; se folosesc agenții cei mai diferiți, capabili de a potența propria reacție imună a gazdei purtătoare de tumoare (adjuvanți ai imunității). Asemenea stimulatori nespecfici ai imunității pot fi microorganisme (*Corynebacterium parvum*, vaccinul BCG, virusul vaccinal), produși microbiologici (adjuvantul Freund, endotoxina de *Escherichia coli*, capsula de *Klebsiella*), produși biologici proprii organismului (timosterina, factorul de inhibiție a migrării, factorul de necroză tumorală), sau anumite substanțe chimice, ca levamisolul.

S-a dovedit că folosirea acestor imunostimulatori nespecfici are un risc mult mai scăzut de a da efecte nedorite, de facilitare sau paralizie imunologică. Rezultatele interesante experimentale au determinat aplicarea din ce în ce mai curajoasă în clinică, a acestor imunostimulatori antigenici sau neantigenici, îndeosebi, *C. parvum*, BCG și levamisolul.

Observații experimentale și clinice din Institutul Oncologic Cluj-Napoca (Chiricuță și colab. 1971, 1973, 1978, 1981) au arătat că imunostimulatorii puternici cum ar fi de exemplu dozele uzuale de TAB, influențează negativ evoluția tumorilor, în timp ce agenții care induc o stimulare blîndă pot determina efecte mai favorabile. În prezent, după numeroase testări, s-a ales ca imunostimulant *Polidinul* (preparat din culturi polimicrobiene, cu germeni omoriți prin căldură), produs al Institutului Cantacuzino Fil. Iași.

În scop profilactic în sensul celor arătate anterior, Polidinul se aplică, în doză de 2 fiole săptămînal timp de 2—3 ani, ca imunoterapie adjuvantă, după un tratament radio-chirurgical cu intenție de radicalitate în cancerul mamar, melanomul malign ș.a. Rezultatele de etapă sînt încurajatoare, dar ele mai necesită proba timpului (fig. 32.2).

În concluzie, din factorii carginogeni intrinseci, imunitatea, poate cel mai important, în prezent este departe de a fi sub controlul nostru. Influențarea imunității în sensul prevenirii îmbolnăvirii prin cancer este iluzorie, iar stimularea acesteia prin metode nespecifice în scopul prevenirii evoluției bolii spre faze incurabile este abia la început, rezultatele nefiind verificate pe un număr suficient de cazuri pentru a putea fi concludente.

32.2.2.3.

Metabolisme viciate

Pornindu-se de la asemănarea structurii nucleului chimic de bază (fenantrenic) al unor cancerigeni cu unii steroizi care apar în diferite secvențe metabolice din organism (hormonii corticosuprarenalieni, sexuali, acizii biliari, colesterolul etc.) s-a emis ipoteza că în anumite condiții patologice, metabolismele intermediare ale acestor steroizi ar putea genera substanțe cancerigene.

Cu toate că Wieland a obținut *in vitro* (1933) transformarea acidului dezoxicolic în 20-metilcolantren, cancerigen puternic, iar Rossner (1937) a

transformat colesterolul în metilcolantren (ambii citați de Graffi), în organism, cu rare excepții, nu s-au putut identifica pînă acum compuși cancerigeni rezultați din metabolismul acestor substanțe.

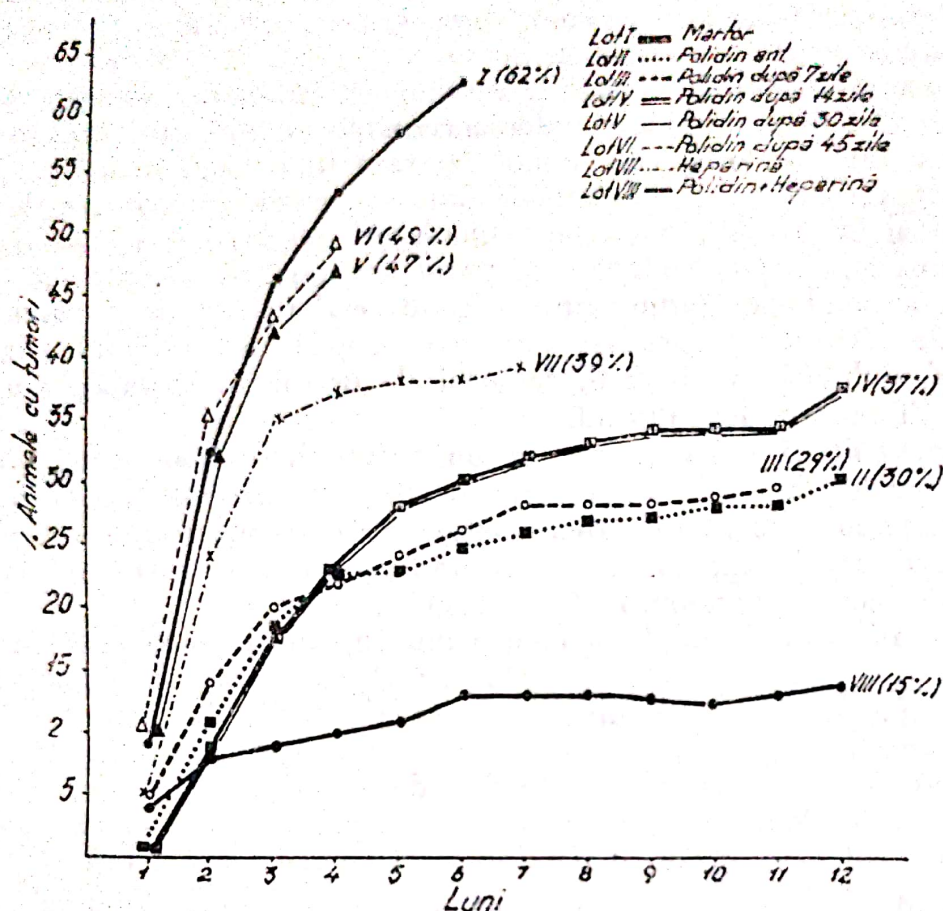


Fig. 32.2. — Timpul de apariție a metastazelor în tratamentul cu polidin (pe diferite loturi experimentale).

Una din dovezile cele mai solide în sprijinul ipotezei producerii de substanțe cancerigene în cursul metabolismelor intermediare (normale sau viciate) a fost adusă de studiile lui Boyland (1963) privind apariția cancerului vezical uman ca rezultat al metabolizării vicioase a triptofanului (acid aminat esențial).

Sînt descrise trei căi de degradare metabolică a triptofanului în organism:

- degradarea oxidativă (calea principală metabolică), duce la formarea de acid nicotinic, precursor al sintezei NAD și NADP;
- degradarea hidroxi-indolică, cu producerea serotoninei;
- calea indolică.

Se observă în figura 32.3 că în degradarea oxidativă apar ca metaboliți intermediari 3-hidroxi-kynurenina, 3-hidroxi-2-amino-acetofenona și acidul 3-hidroxi-antranilic. Toți acești trei ortoaminofenoli au proprietăți cancerigene asupra vezicii urinare. În urina subiecților normali acești cataboliți se găsesc în cantități reduse. La unii bolnavi cu cancer vezical (mai ales la cei care lucrează în industria coloranților de anilină) acești orto-aminofenoli se găsesc în concentrații crescute în urină. Boyland susține că la acești bolnavi sistemele enzimatice care guvernează metabolizarea triptofanului ar fi deficitare, ceea ce

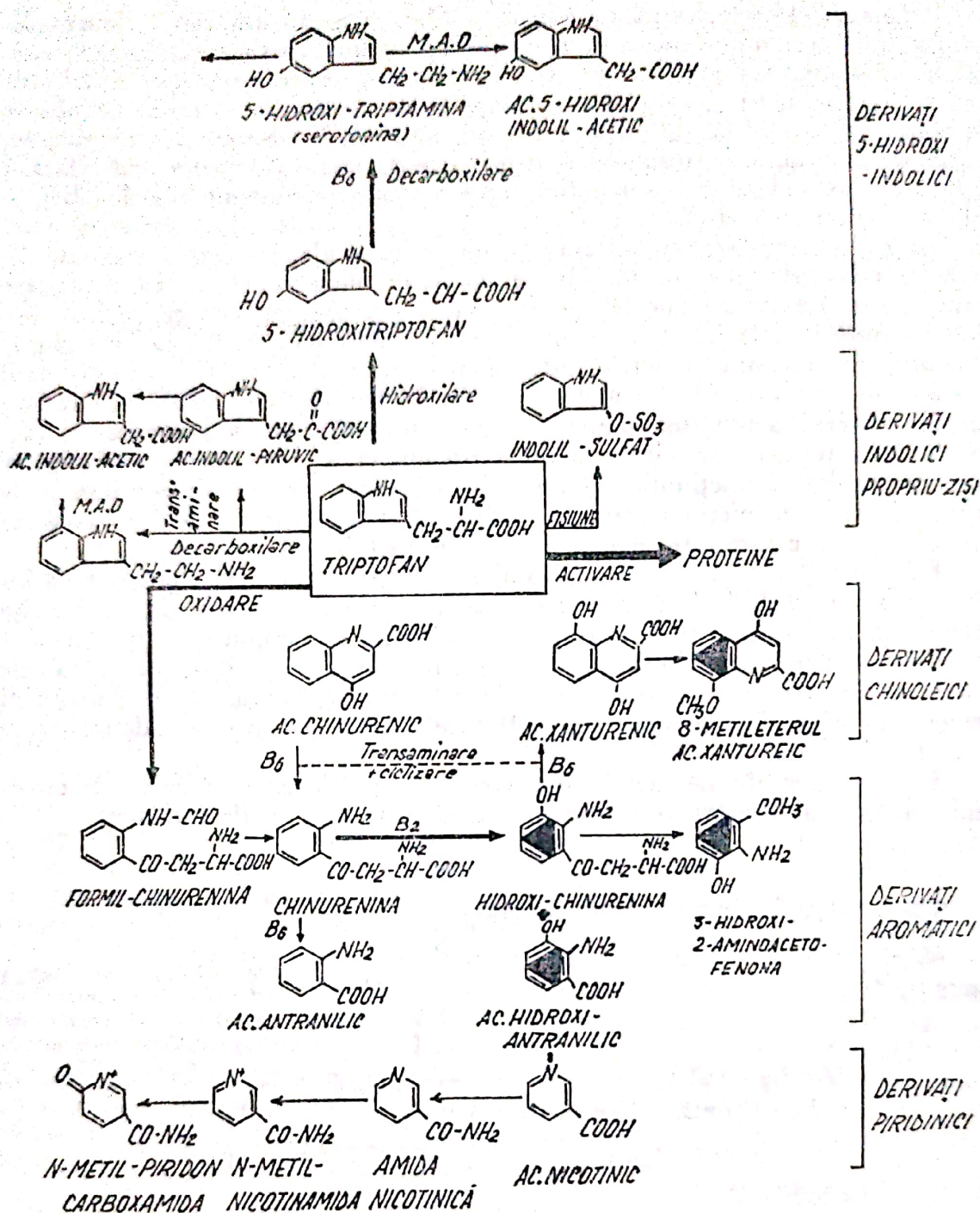


Fig. 32.3. — Schema metabolismului triptofanului.

duce la acumularea ortoaminofenolilor în urină și exercitarea efectului lor carcinogen.

Dreux (1968) susține că vitaminele din grupul B (B_1 , B_2 , B_6) facilitează metabolismul corect al triptofanului și recomandă administrarea profilactică a complexului vitaminic B.

Pe de altă parte se pare că 2-acetamino-fluorenil perturbă și el metabolismul triptofanului, cu mărirea producției de ortoaminofenoli.

Olănescu (1971) citează pe Curtis și Man, care au arătat că alimentația bogată în 2-acetaminofluoren și triptofan, precipită apariția cancerului vezical la șobolani. Acțiunea carcinogenă a ortofenolilor rezultați din metabolismul triptofanului este blocată prin conjugare, eliminarea lor în urină făcându-se de obicei sub formă de sulfați și gluconați inactivi. Fenomenul de deconjugare, urmat de acumularea ortofenolilor în urină se datorește enzimelor arilsulfataza și beta-glucuronidaza, a căror activitate a fost găsită crescută în urina bolnavilor cu cancer vezical (Mateea, 1960).

Beta-glucuronidaza și sulfataza sînt produse de lizozomi, eliberate în sînge și eliminate prin urină. Nu se cunoaște mecanismul intern prin care concentrația acestor enzime crește în urina bolnavilor cu cancer vezical. S-a observat totuși că la bolnavii cu insuficiență hepatică concentrația beta-glucuronidazei este crescută în ser. Aceste enzime acționează numai la un pH acid (5—6), așa cum este pH normal al urinei. Alcalinizarea pH ($\text{pH}=7$) reduce cu pînă la 9/10 activitatea enzimelor. Staza urinară este de asemenea un factor favorizant, care permite o acțiune prelungită a substanțelor cancerigene, de unde rezultă că micțiunile frecvente ar fi încă un element de profilaxie. De fapt, animalele cu micțiuni frecvente (șoarecele, hamsterul) fac mai greu cancer vezical decît cele care rețin mai mult timp urina (cîinele).

Lev (1952), citat de Boyland și Olănescu a arătat că 1,4-zaharolactona inhibează acțiunea hidrolizantă a beta-glucuronidazei în urină, fapt care l-a determinat pe Boyland să recomande în profilaxia cancerului vezical la muncitorii din industria de anilină, folosirea acestei substanțe în doză de 16 tablete a 0,26 g/repartizate pe toată ziua, pentru ca medicamentul să fie permanent prezent în urină. Pentru inhibarea sulfatazei urinare s-a propus administrarea de fosfat de sodiu.

Un alt exemplu de metabolism viciat, cu producerea în exces de estrogeni endogeni a fost incriminat în inducerea carcinomului de endometru.

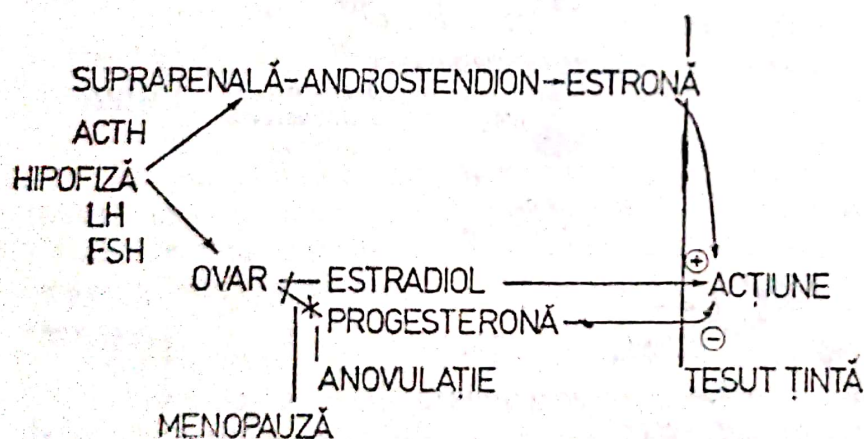


Fig. 32.4. — Originea și acțiunea estrogenilor naturali și a progesteronei (Bayard-Estrogènes et cancers — R. P. 1979, 29, 1745—52).

Încă la sfîrșitul deceniului trecut (1967—68) McDonald și colab. emiteau ipoteza că modificările survenite în producția de estrogeni ar reprezenta factorul etiologic major al carcinomului de endometru (fig. 32.4) (schema lui Bayard).

Această viciere metabolică survine prin 2 mecanisme: fie prin creșterea absolută a producției estrogenilor endogeni, fie prin impregnarea estrogenică continuă, netamponată de prezența progesteronei.

Privind primul mecanism s-a pornit de la observația incidenței crescute a carcinomului de endometru la femeile supraponderale sau obeze, care au un

risce pînă la de 10 ori mai mare. Pe de altă parte Schindler și colab. (1974) au constatat o creștere de 4 ori a conversiunii androstendionei în estronă în țesutul adipos, fapt confirmat de numeroși alți autori (Allen, 1976, Salmi, 1979). Potrivit afirmațiilor lui Lipsett (1977) secvența fenomenelor ar fi deci următoarea: obezitatea accelerează și mărește conversiunea androstendionei în estronă și acest exces de estrogeni induce o stimulare estrogenică permanentă.

Al doilea mecanism al hiperestrogeniei este prin insuficiență progesteronică, or se știe că progesterona:

- crește clearance-ul androgenic, reducînd conversiunea androgenilor în estrogeni;

- activează estradiol-dehidrogenaza din endometru, scăzînd nivelul intracelular de estrogeni;

- blochează acțiunea proliferativă a estrogenilor din endometru;

- se leagă de un receptor specific citoplasmatic, blocînd receptorii de estrogeni;

- exercită un efect inhibitor asupra sintezei ARN și ADN, de unde scăderea activității proliferative din endometru.

Desigur, în privința acestui al doilea exemplu, măsurile profilactice sînt evidente: combaterea obezității, evitarea tratamentelor intempestive cu estrogeni în perioada perimenopauzală, administrarea profilactică de progestative.

Cu acest din urmă exemplu am căutat să demonstrăm încă o dată că diferiții factori care participă la procesul carcinogenetic se intrică: aici cel metabolic cu cel hormonal (ca factori endogeni), cu cel alimentar (exogen), fapt de care trebuie să se țină seama și atunci cînd este vorba de profilaxie.

În concluzie, considerînd factorul de viciere a metabolismelor în oncogeneză, putem afirma că deși apariția substanțelor cancerigene endogene în aceste condiții este dovedită doar într-un număr redus de cazuri (vezi și despre rolul nitriților și nitraților în producerea cancerului gastric), nu este exclus ca asemenea mecanisme metabolice perturbate să fie puse în evidență și în alte localizări neoplazice. Oricum, acești factori carcinogeni sînt departe de a fi complet cunoscuți și stăpîniți, astfel încît din punct de vedere profilactic nu se poate face mare lucru. Importanța integrității funcționale a ficatului, a complexului vitaminei B pentru metabolismul normal al triptofanului, importanța zaharolactonelor și fosfatului de sodiu, toate privind prevenirea cancerului vezical, sau evitarea adipozității și a excesului de estrogeni pentru cancerul de endometru sînt cuceriri modeste dar promițătoare în această tulburătoare ipoteză a cancerigenilor endogeni. Încă un domeniu fertil de cercetare pentru oncologia viitorului.

32.2.2.4.

Factorii hormonal

Rolul factorilor hormonal în carcinogeneza unor neoplasme umane sau experimentale este de multă vreme cunoscut. Lacassagne a fost primul care a arătat că dozele mari de foliculină determină apariția cancerului de sîn la șoareci. În schimb, la ciine s-a putut asocia apariția de tumori mamare, după administrarea unor progestative (acetat de clormadinonă, medroxiprogesteronă sau megestrol). Extirparea hipofizei determină la animalele canceroase oprirea și retrocedarea creșterii tumorale.



Multe din aceste aspecte sînt tratate pe larg într-un capitol aparte (Hormonii și cancerul). Interferența cu această verigă oncogenă, în sensul profilaxiei, este aplicabilă exclusiv în cancerule în care este clar dovedit un determinism hormonal (studiile recente privind receptorii hormoni au adus o contribuție importantă în acest domeniu): cancerul mamar, cancerul de endometru, cancerul de prostată, și în mai mică măsură cancerul ovarian, cancerul colului uterin sau chiar localizări neoplazice despre care pînă de curînd s-a crezut că sînt în afara circuitelor hormonale (cancerul hepatic, melanomul malign ș.a.).

O profilaxie primară a cancerului mamar, privind factorul hormonal, este combaterea stărilor de hiperestrogenie, respectiv evitarea unor tratamente intempestive cu estrogeni. Se cunosc adevărate „explozii” tumorale, apariția unei mastite carcinomatoase prin tratamente necontrolate cu medicație estrogenică. Atenție la abuzul de estrogeni la bărbații cu cancer prostatic, la care poate să apară un cancer mamar. Ca profilaxie secundară și terțiară, amintim tratamentele cu progestative sau antiestrogeni sau castrarea profilactică, cunoscută ca prelungind intervalul de timp pînă la apariția unei recidive sau metastaze în cancerul mamar.

Evitarea abuzului de estrogeni este recomandată și în profilaxia cancerului de endometru (vezi anterior datele privind rolul excesului de estrogeni endogeni), iar o medicație progestativă sau prin antiestrogeni, ca tratament adjuvant de profilaxie secundară a apariției recidivelor sau metastazelor este de asemenea de uz curent.

S-a mai adus în discuție efectul negativ al abuzului de tratamente hormonale (sub forma medicației anticonceptionale) în carcinogeneza colului uterin, sau a cancerului hepatic primitiv, dar datele nu sînt destul de concludente, iar evitarea anticoncepționalelor ca mijloc de prevenire a acestor localizări neoplazice nu are încă un suport științific fundamentat.

Din toate aceste date, avînd în vedere rolul complex și pe departe incomplet cunoscut al factorului hormonal în oncogenă, precum și faptul că acesta este implicat într-un număr relativ redus de localizări neoplazice, măsurile preventive care privesc această componentă a carcinogenezei, nu joacă un rol major în profilaxia cancerului în ansamblul ei.

32.2.2.5.

Factorul psiho-emoțional

În medicina ultimelor decenii a ocupat un loc din ce în ce mai important latura psiho-somatică, ce atribuie factorilor psihici un rol important în numeroase îmbolnăviri, printre care și cancerul. Este absolut evident în prezent că boala neoplazică are un determinism plurifactorial, dar participarea componentei psihologice nu mai poate fi omisă. Numeroase fapte de observație curentă atestă rolul unor factori psihici fie în declanșarea bolii, fie în trecerea ei rapidă într-o altă etapă evolutivă.

Galenus atrăsese deja atenția asupra faptului că femeile „melancolice” sînt mai sensibile la cancer decît cele „sanguine”. În secolul trecut numeroși autori (Nunn, 1822; Walshe, 1846; Paget, 1870) citați de Postelnicu (1977), au observat că temperamentul introvertit și emoțiile negative favorizează dezvoltarea cancerului.

La noi în țară, Ecaterina Semen-Negrea (1975) citată de Postelnicu a găsit o predominanță statistic dovedită a cancerului la subiecții mai evoluți din punct de vedere intelectual, avînd o sensibilitate psihică mai bogată sau exagerată, cu trăiri interioare mai puternice. Aceste persoane sînt mai susceptibile la îmbolnăvire, pentru că fenomenele care au loc în psihicul lor iau o amploare mai mare, avînd profunde repercusiuni asupra întregii economii a organismului pînă la nivel molecular.

Influența psihicului asupra imunității și activității endocrine sînt deja fapte bine cunoscute. Bleuler arată că amenoreea psihogenă este cel mai de necontestat sindrom endocrin de natură psihogenă. Este de asemenea o observație clasică faptul că risul mărește leucocitoza.

Influența unor factori psihici violenți, stresanți, asupra organismului este cunoscută prin lucrările lui Selye asupra sindromului general de adaptare, care cuprinde aproape toate componentele importante din economia generală a organismului, creînd o susceptibilitate crescută la acțiunea numeroaselor noxe, exo- și endogene. Dar nu numai stresul psihic acut, puternic, ci și trăirile afective negative de mică intensitate, dar repetate, stările conflictuale de orice fel pot fi generatoare de tulburări endocrine, imunologice, creînd un teren favorabil îmbolnăvirii, inclusiv prin cancer.

Reversul tuturor acestora înseamnă profilaxie. Este aproape imposibil de dat o rețetă general valabilă pentru menținerea unui tonus psihic favorabil, a unui teren psiho-somatic sănătos. Ceea ce este valabil din acest punct de vedere pentru patologie în general, se referă și la boala canceroașă.

Considerăm că poate mai importante sînt obiectivele profilaxiei secundare și terțiare și care privesc relația psiho-afectivă dintre medic și bolnavul neoplazic pe tot parcursul etapelor diagnostice, terapeutice și a supravegherii postterapeutice.

Este cunoscută evoluția negativă a bolii, prin stres-ul provocat nu atît de actul terapeutic în sine, adesea mutilant, cît mai ales de modul (lipsa de tact și înțelegere) cu care acesta este propus bolnavului. Ne referim îndeosebi la intervențiile care reclamă ablația sînului la femei, sau amputația unui membru etc. Se cunoaște din practica oricărui medic care are contingențe cu bolnavul neoplazic ce furtună psihică declanșează uneori aflarea întîmplătoare a diagnosticului, care duce la o prăbușire a organismului, cu deces rapid, chiar dacă bolnavul se afla după tratament într-o perioadă de echilibru stabil cu boala staționară, sau aparent fără semne neoplazice.

Rezultă, ca și din numeroase alte observații de fiecare zi, că factorul psihic reprezintă o componentă însemnată în determinismul cancerului, dar mai ales că resursele noastre privind profilaxia, care se adresează acestei componente sînt nelimitate. Este poate un domeniu al profilaxiei în care, chiar cu actualul bagaj de cunoștințe medicale, pot fi obținute unele rezultate bune.

32.3.

Profilaxia secundară a cancerului

Amintim că aceasta se referă la descoperirea bolii în faze cît mai incipiente, cînd un tratament radical și o vindecare definitivă mai sînt posibile. Astfel definită, profilaxia secundară se suprapune noțiunii de *depistare și diagnostic precoce*.

Din acest punct de vedere situația este foarte deficitară: aproape 2/3 din cancere sînt depistate tardiv, cînd, cu toată îmbunătățirea neconținută a mijloacelor terapeutice (radioterapia cu înalte energii, chimioterapia citostatică și hormonală) rezultatele sînt dezolante. O scădere notabilă a mortalității prin cancer nu poate fi deci scontată decît prin depistarea în masă a unor cancere incipiente cel puțin în localizările favorabile depistării. Este adevărat că există unele cancere, situate în organe mai ușor accesibile mijloacelor uzuale de investigație (cancerul mamar, cancerul uterin, cancerele sferei ORL, cancerul pielii) și altele situate în organe profunde mai greu accesibile, cum ar fi cancerele organelor abdominale interne, cancerele sistemului nervos central, hemopatiile maligne, ceea ce nu justifică însă „eșecul” depistării precoce. Acesta trebuie pus mai degrabă pe seama faptului că pe de o parte bolnavii sînt lipsiți de cele mai elementare noțiuni, de educație sanitară, iar corpul medical s-a obișnuit să aștepte apariția unor „semne patognomonice”, omițînd faptul că pentru un diagnostic precoce, aceste semne trebuie căutate, neoplazia incipientă neimpunîndu-se niciodată prin simptome zgomotoase, evidente.

În ultimii ani au fost făcute progrese notabile în arsenalul mijloacelor de investigație paraclinică și de laborator. Este suficient să amintim tomografia computerizată, ecografia, fibroscopia, precum și încercările de „diagnostic biochimic extratumoral”, care urmăresc să pună în evidență anumiți „markeri” tumoralii biochimici, imunologici, cito-enzimatici, citogenetici etc. Imensa majoritate a acestor metode nu sînt însă aplicabile în masă, în scop de depistare, ci doar în procesul de diagnostic al cazurilor preselectionate ca suspecte, prin alte mijloace, devenite clasice (examen clinic, radiologic curent etc.).

Există însă cîteva mijloace de investigație care pot fi folosite în acțiuni de masă, pentru depistarea atît a stărilor precanceroase (profilaxie primară), cît și a unor cancere incipiente (profilaxie secundară). Prezentăm aceste aspecte pentru trei localizări neoplazice majore (prin ponderea lor în totalul îmbolnăvirilor prin cancer): cancerul colului uterin, cancerul mamar și cancerul gastric.

32.3.1.

Cancerul colului uterin

Ideea de profilaxie a cancerului colului uterin se bazează pe un lung sir de date teoretice și experiențe practice, care au confirmat faptul că neoplasmul colului uterin este precedat o lungă perioadă de timp de unele modificări lezionale, care pot fi relativ ușor depistate (prin poziția favorabilă a colului uterin) și tratate eficient prin mijloace simple, nemutilante. S-a născut astfel ideea de „screening”, de depistare în masă. În ordine istorică primul „screening” a fost clinic și socotim că un merit deosebit în această direcție îl au autorii sovietici în frunte cu N.N. Petrov, care au utilizat examenul clinic în masă al femeilor între 25 și 60 de ani pentru punerea în evidență a acelor „eroziuni” cronice, fără tendință la vindecare spontană, sau recidivate chiar după tratamente corect aplicate și care ar trebui considerate drept suspecte. Desigur, în accepțiunea actuală, noțiunea de precancer al colului are cu totul alt suport (histologic, citologic, colpo-

* De exemplu leucoza în cancerul mamar și ovarian, studiată în Institutul Oncologic Cluj-Napoca (Chiricuță — Bojan).

scopic, citogenetic), dar în anii deceniului al 6-lea acțiunile profilactice cu ajutorul examenului clinic, efectuat în scop de depistare, chiar cu ajutorul unui personal mediu, au însemnat un mare succes.

Pentru depistarea în masă a cancerului și a stărilor precanceroase, colul uterin beneficiază în prezent poate de cel mai valoros test de screening, care este examenul citologic. Descoperit de A. Babeș și C. Daniel în 1927, a fost introdus în practica curentă de Papanicolau și Traut (1943) dovedindu-se unul din cele mai excelente teste de depistare:

- este o metodă simplă, expeditivă, cu minimum de disconfort pentru individ,

- are o largă acceptabilitate,

- are o aplicabilitate teoretic nelimitată,

- permite surprinderea bolii în stadii foarte incipiente (stadiul O, toate formele de cancer preclinic — stadiul I A), precum și a stărilor precanceroase, cunoscute generic ca „neoplazie cervicală, intraepitelială” (cervical intraepithelial neoplasia) (CIN) sau displazii;

- metoda este foarte *sensibilă*, avînd rezultate „fals negative” în jurul lui 5%;

- metoda este *fiabilă*, avînd un procent scăzut de rezultate fals pozitive;

- metoda este rentabilă, pentru că se adresează unei localizări a cancerului cu pondere destul de ridicată în cadrul neoplasmelor în general și o incidență care la o populație neselectată oscilează între 4 și 6‰;

- metoda este ieftină, economică.

Pentru ca toate aceste calități să fie exploatate la maximum, trebuie să fie respectate unele deziderate (Chiricuță, Munteanu, Bolba — 1978):

- depistarea citologică trebuie să cuprindă mase cît mai largi de populație și să se adreseze îndeosebi *populației cu risc* (de la debutul activității sexuale și pînă la 60—65 ani);

- trebuie să fie o *acțiune continuă, de durată, cu repetare periodică*, optimum la 2—3 ani, dar pentru femeile cu risc ridicat la intervale și mai dese;

- trebuie să se facă o *recoltare corectă, prelucrare de laborator exactă și interpretare corectă*. Valoarea acțiunilor de depistare citologică este direct corelată cu calitatea laboratorului de citologie.

- acțiunile de depistare în masă trebuie să fie foarte *bine organizate*, la acestea participînd medici de medicină generală (pentru mobilizare), medici (biologi) citologi, anatomo-patologi, specialiști ginecologi (pentru examinarea cazurilor suspecte și finalizarea diagnosticului), oncologi și organizatori de sănătate pentru coordonarea întregii acțiuni și realizarea legăturii dintre diferitele compartimente (fig. 32.5).

În Institutul Oncologic Cluj-Napoca, există cîteva priorități privind acțiunile de depistare în masă cu ajutorul examenului citologic:

- imaginarea unei metode de „selfscreening citologic”, de autorecoltare a secreției vaginale cu ajutorul unui tampon din material plastic (Chiricuță, Munteanu, 1969), aplicat cu succes la o populație neselectată în orașul Cluj-Napoca și orașele Gherla și Galați (Munteanu, Lupu);

- metoda tripsinizării colului, urmărind să mărească descuamația celulară și să elimine o parte din frotiurile de tip III (incerte), care „virează” spre tip IV sau chiar V (Chiricuță I., Galatâr Natalia, Galatâr S., 1968);

— metoda chestionarului oncologic (Chiricuță, Munteanu, Rișcă, 1978), în care examenul citologic se însoțește sau se alternează cu o altă metodă, de autodepistare mamară, prin completarea unui set de întrebări din sfera genito-

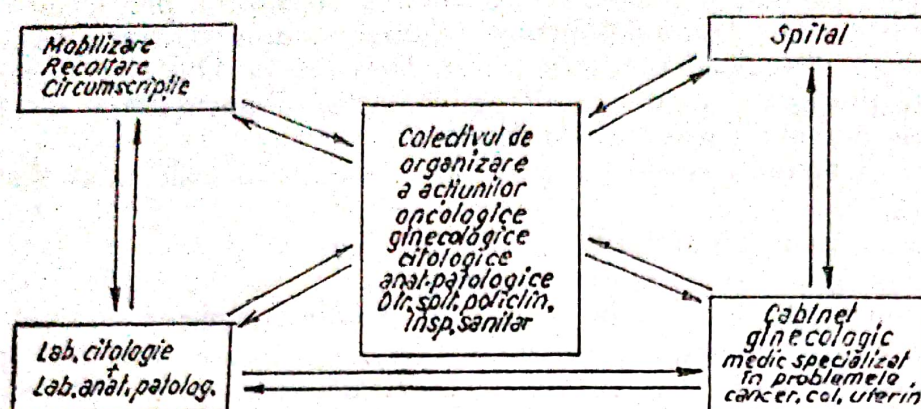


Fig. 32.5. — Reprezentarea schematică a metodologiei depistării citologice a cancerului colului uterin.

mamară, care să permită selecționarea unei populații cu risc, ce urmează să fie supusă apoi altor metode de investigație (examenul clinic, mamografic, termografic, respectiv colposcopic, citologic).

„CHESTIONARUL ONCOLOGIC“

Numele, Prenumele Vîrsta
 Ocupația Domiciliul: Orașul (com.)
 Județul Str. Nr.
 Data ultimei recoltări citologice

(Încercuțiți răspunsul care vi se potrivește)

Ați alăptat copii la sîn?	da	nu
Ați suferit vreo lovitură puternică la sîn?	nu	da
Dacă vă palpați sinii, simțiți un nodul (tumoare)?	nu	da
Vă curge în prezent sînge sau alte secreții (în afară de lapte) din mamelon?	nu	da
Aveți scurgeri vaginale?	nu	da
Ați constatat urme de sînge în aceste scurgeri?	nu	da
Aveți sîngerări la contactul sexual sau în afara menstrei?	nu	da
Sînteți la menopauză? Din ce an?	nu	da
Aveți sîngerări vaginale de cînd sînteți la menopauză?	nu	da

Examenul citologic, ca metodă de depistare în masă a cancerului colului uterin a fost introdus de Ministerul Sănătății printre programele prioritare ale luptei contra cancerului din țara noastră, încă din anul 1971/72, la început (3 screeninguri consecutive la 3 ani) numai în unele capitale de județ, iar din anul 1981 în toate orașele reședință de județ.

Valoarea screeningului citologic în masă, ca metodă profilactică, are ca unitate de măsură efectul asupra scăderii incidenței și a mortalității cancerului

colului uterin. Cităm în această privință una din acțiunile de masă, devenită clasică și anume cea din provincia canadiană Columbia Britanică (Fiedler și colab.), începută în jurul anilor '60. În această acțiune, după ce peste un milion de femei au trecut cel puțin o dată prin „filtrul” examenului citologic, s-a reușit ca după 20 de ani să nu se mai depisteze — la cazurile în prealabil testate — nici un caz nou de cancer al colului uterin în stadiile II—IV, consemnându-se totodată scăderea incidenței cancerului invaziv de la 28,4‰ (1955) la 8,6‰ (1974), ca urmare a depistării și tratării cancerului preinvaziv și a stărilor precanceroase (Raportul Walton).

Într-o altă acțiune, condusă de Christopherson și colab. (1970) în provincia Jefferson County din statul Kentucky (SUA), se constată într-o perioadă de 15 ani (1953—1967) o scădere marcată de peste 52% a mortalității prin cancer al colului uterin prin screening citologic intensiv.

În sfârșit, amintim că și în țara noastră, după aplicarea în practică a screeningului citologic în masă, mortalitatea prin cancer al colului uterin a scăzut în județul Cluj după 6 ani de acțiune (un screening și un rescreening) de la 12,0‰ (1973) la 7,8‰ (1980), iar în municipiul Oradea de la 17,1‰ la 13,9‰ (1980) (comunicare personală).

32.3.2.

Cancerul mamar

Privind cancerul mamar, metodologia actuală de diagnostic devenită oarecum clasică folosește examenele clinic, mamografic, termografic, facultativ puncția biopsică, sectorectomia cu biopsie extemporanee (ultimele două numai în anumite condiții și în centre prevăzute cu un anatomo-patolog experimentat).

Din acestea au fost încercate cu succes ca metode de depistare examenul clinic (inclusiv tehnici de autoexaminare), examenul mamografic și examenul termografic.

Valoarea și limitele examenului clinic au constituit obiectul de cercetare a numeroși autori. Într-o perioadă de 21 ani Gilbert (cit. de Chiricuță și colab.) a examinat în mod repetat, periodic, un lot de 7 819 femei, depistând 55 de cancere mamare. Indicele de depistare a fost la prima examinare de 1,69‰ iar la reexaminare de 1,44‰. La primul lot, din 41 de cazuri depistate, 33 (80%) nu au avut adenopatie axilară și au supraviețuit la 5 ani 32/33 (96%). Concluzia evidentă: șansa de supraviețuire este mult mai mare la femeile supuse unui screening, chiar și numai prin autoexaminare, decât la femeile nesupuse nici unui fel de examen profilactic.

Evident, valoarea examenului clinic, ca metodă de depistare este condiționată de însăși limita acestei tehnici de examinare, care în cel mai bun caz nu poate percepe decât tumorile ce au depășit un diametru de 1 cm.

O asemenea limită nu este atinsă decât în condiții excepționale când examenul clinic este folosit în cadrul unei metode de autoexaminare. Pornindu-se de la constatarea că în peste 80% din cazuri tumoarea mamară este depistată în mod întâmplător de femeia însăși, s-a născut ideea de a învăța femeile să-și palpeze sânii periodic, sistematic, conștient, sperând ca în felul acesta descoperirea cancerului mamar să se deplaseze cât mai aproape de limita inferioară a percepției palpatorii.



Haagensen (1971) remarcă între anii 1943—1955 și 1956—1967 o reducere a duratei intervalului de timp dintre descoperirea tumorii mamare și prezentarea la medic de la o medie de 7,5 luni la 4,9 luni, ceea ce a coincis și cu o reducere a diametrului mediu al tumorii. Aceste cifre au fost puse în legătură cu îmbunătățirea educației sanitare și a răspîndirii metodei auto-examinării.

Din nefericire, cu toate că această metodă se bazează pe o idee corectă, în practică a dat rezultate foarte modeste, deoarece majoritatea femeilor o abandonează cu timpul sau o execută din ce în ce mai neregulat și nesistematic, pierzînd din calitatea inițială.

În Institutul Oncologic Cluj-Napoca s-a propus ca metodă de auto-examinare chestionarul oncologic, amintit mai înainte, care cuprinde și 5 întrebări din sfera mamară și care a fost aplicat cu succes la o populație ne-selecționată din orașul Gherla (Munteanu, Lupu).

Aplicarea *mamografiei* ca test de screening în cancerul mamar a fost foarte controversată. Ea aduce un plus de acuratețe diagnosticului de suspiciune, pe care îl poate coborî pînă la dimensiuni tumorale în jurul lui 0,5 cm, deci infra-clinic, în schimb este acuzată că iradiază inutil mamela. Îmbunătățirea aparatului, astfel încît dozele de iradiere folosite să scadă simțitor, a îndepărtat această servitute, dacă însă mamografia nu se folosește totuși pe scară largă ca test de screening, aceasta se datorește unor motive economice, precum și faptului că termografia, coroborată cu examenul clinic, realizează o presecție optimală a cazurilor și o scădere simțitoare a numărului de cazuri care necesită mamografie.

Un exemplu despre posibilitățile mamografiei ca metodă de screening este dat de Dowdy și colab. (1971), care la 3 470 de femei în vîrstă de peste 40 de ani descoperind 46 de cancere, au obținut un indice de depistare excelent: 13,2‰ din care 19,5‰ erau subclinice și numai 27,0‰ au prezentat adenopatie axilară histologic pozitivă. Făcînd însă o apreciere economică a acțiunii, autorul ajunge la concluzia că este mult prea costisitoare, pentru un caz de cancer mamar astfel depistat cheltuindu-se 2 223 de dolari.

La concluzii asemănătoare, privind costul unor acțiuni de screening mamografic în masă, ajung și alți autori și dacă se adaugă faptul că la femeile cu sîni voluminoși și mastoze difuze (deci mai ales la femeile în premenopauză) mamografia are un important indice de eroare (între 15 și 20‰) înțelegem de ce Societatea Americană de Cancer interzice mamografia ca test de screening la femeile între 30 și 50 ani.

Aplicarea termografiei ca metodă de screening s-a impus cu precădere în ultimii ani. Institutul Oncologic Cluj-Napoca (Chiricuță, Munteanu, Bologa, 1974) este printre cele dintîi care au propus această metodă, iar în primul studiu-pivot efectuat la 250 de femei dintr-o întreprindere industrială, s-au depistat 1 cancer mamar și 5 tumori benigne.

Metodologia actuală în depistarea cancerului mamar prin acțiuni profilactice active utilizează examenul clinic, termografia ca teste de depistare, păstrînd mamografia pentru cazurile preselecționate ca suspecte (este și metodologia folosită în țara noastră pentru acțiunile ordonate de Ministerul Sănătății începînd din anul 1972, în asociere cu screeningul citologic pentru cancerul genital feminin).

Screeningul pentru depistarea precoce a cancerului mamar nu a atins amplitudinea și acuratețea celui citologic (pentru colul uterin). De aceea diagnosticul în această localizare continuă să fie în majoritatea cazurilor legat de descoperirea întâmplătoare a tumorii; sperăm că în anii următori se va putea face un salt remarcabil în această importantă localizare neoplazică.

32.3.3.

Cancerul gastric

Cancerul gastric, localizare care în numeroase zone geografice ocupa la ambele sexe primul loc din toate îmbolnăvirile prin cancer (inclusiv în țara noastră) nu are încă o metodologie de depistare bine codificată. Deocamdată, primii care s-au preocupat de acest aspect sînt autorii japonezi (cităm pe Shirakabe și colab., 1968) care au efectuat deja screeninguri pe grupe populaționale de ordinul zecilor și sutelor de mii. Ei au folosit în acest scop la început examenul radiologic, dar mai recent fibroscopia cu recoltare pentru examen citologic și mai rar gastrocamera. Cazurile astfel preselecționate au fost apoi supuse metodelor curente de diagnostic, pivotul acestora rămînînd examenul radiografic și fibrogastroscopic. La bolnavii astfel depistați s-a consemnat un indice de operabilitate foarte ridicat (peste 90%), cu supraviețuiri la 5 ani de aproape 75%, ceea ce reprezintă un veritabil succes. Deocamdată, în afară de autorii japonezi nimeni nu a putut raporta rezultate asemănătoare, dar din exemplele citate rezultă că există posibilitatea unei profilaxii secundare eficiente în cancerul gastric.

Din datele prezentate reiese că există resurse potențiale suficiente pentru îmbunătățirea substanțială a precocității diagnosticului în unele din principalele localizări neoplazice, astfel încît va putea fi depășită situația actuală, în care aproape 2 cazuri de cancer din 3 decedează înainte de a ajunge la 5 ani de la descoperirea bolii. Sîntem de părere că folosind chiar numai metodologia actuală de depistare și diagnostic se poate inversa acest raport, astfel ca 2/3 din bolnavii de cancer să poată fi salvați.

Rezultă deci că profilaxia secundară a cancerului are încă serioase rezerve și că ea ar trebui să fie una din principalele direcții de acțiune ale luptei împotriva cancerului.

Bibliografie

- ANDERSON E. D. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1972, 48, 4, 1 029—1 034.
 ALPERT M. E., HUTT M. S. R., WOGAN G. N., DAVIDSON C. S. — *Cancer (Philad.)*, 1971, 28, 253—260.
 ATKIN N. B., BECKER M. C. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1966, 36, 539.
 AUERSPERG N., COREY M. J., WORTH A. — *Cancer Res.*, 1967, 27, 1 394.
 BABEȘ V. — *An. Acad. Rom.*, 1908, 30, II, 165—171.
 BABEȘ A. — *Presse méd.*, 1928, 29, 451—455.
 BARA ADELA — Aflatoxinele, în: *Cancerul și mediul ambiant. Enciclopedia Oncologică*, vol. 5, ed. Inst. Oncol. Cluj-Napoca, 1980, 284—292.
 BLANCHET M., BOYES D. A., CARMICHAEL J. A. ȘI COLAB. — *Canad. Med. Ass. J.*, 1976, 114, 1—32.
 BOCȘAN GEORGETA — Paraziții și cancerul, în: *Cancerul și mediul ambiant. Enciclopedia Oncologică* vol. 5, Ed. Inst. Oncol. Cluj-Napoca, 1980, p. 427—435.



- BODDINGTON N. M., SPRIGGS A. L., WOLFENDALE M. R. — *Britt. Med. J.*, 1965, 1, 154.
- BOLOGA S., MUNTEANU S., CHIRICUȚĂ I. — Breast cancer screening by the thermovision procedure. Comunic. Simpoz. Zilele medicale Cluj, Probleme de oncologie 24—25. IX. 1974, vol. rezumate, 1974, 15—16.
- BOYLAND E. — The biochemistry of bladder cancer, Ed. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1963.
- BULBROOK R. D., HAYWARD J. L., SPICER C. C. — *Lancet*, II, 1971, 7 721, 395—98.
- CHIRICUȚĂ I., MUREȘIANU T., TODORUȚIU C., RIȘCĂ R., MULEA R. — *Oncologia (Buc.)*, 1971, 1, 9—12.
- CHIRICUȚĂ I., BOJAN OTILIA, COMES RODICA — Posibilități de diagnostic biochimic extratumoral în cancerul sînului, în: Cancerul sînului, *Enciclopedia Oncologică*, vol. 2, Ed. Inst. Oncol., 1977, p. 566—68.
- CHIRICUȚĂ I., BOLBA GH., MUNTEANU S. — Metodologia organizării depistării și diagnosticului precoce în cancerul sînului, în: Cancerul sînului, *Enciclop. Oncologică*, vol. 2, Ed. Inst. Oncol., 1977, p. 489—500.
- CHIRICUȚĂ I., MUNTEANU S., RIȘCĂ M. — Unele probleme actuale ale depistării cancerului colului uterin, în: Îndreptar de citologie pentru diagnosticul precoce al cancerului colului uterin, Ed. Medicală, București, 1978, p. 7—14.
- CHIRICUȚĂ I., MUNTEANU S., BOLBA GH. — Metodologia depistării în masă a cancerului colului uterin, în: Îndreptar de citologie pentru diagnosticul precoce al cancerului colului uterin, 1978, p. 15—33.
- CHIRICUȚĂ I. — "Pap-test or Babeș-method?" Un dosar neîncheiat al istoriei medicinei; cine a descoperit metoda citodiagnosticului precoce al cancerului colului uterin?, în: Îndreptar de citologie pentru diagnosticul precoce al cancerului colului uterin, Ed. Medicală, București, 1978, p. 34—45.
- CHIRICUȚĂ I. — Profilaxia cancerului, în: Profilaxia. Probleme biomedicale și sociale, sub redacția O. Fodor, Ed. medicală, București, 1978, p. 157—176.
- CHIRICUȚĂ I. — Alimentația și cancerul, în: Cancerul și mediul ambiant, *Enciclopedia Oncologică*, vol. 5, Ed. Inst. Oncologic Cluj-Napoca, 1980, p. 87—118.
- CHIRICUȚĂ I., TODORUȚIU C., RIȘCĂ R., FRENKEL Z. — Polidinu, imunostimulator valoros în boala canceroasă. Studiu experimental. Rezultate clinice preliminare, în: Cancer-Hemopatii maligne, vol. 10, *Enciclopedia Oncologică*, 1982, p. 646—651.
- CHIRICUȚĂ I., GALATĂR NATALIA, GALATĂR S. — *Rev. franș. Gynec.*, 1968, 63, 91.
- CHIRICUȚĂ I., MUNTEANU S. — *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 1969, 105, 286.
- CHRISTOPHERSON W. M., MENDEZ W. M., AHUJA ELIZABETH ȘI COLAB. — *Cancer (Philad.)*, 1970, 26, 29—38.
- DOWDY A. H., BARKER F., LA GASSE D. L. ȘI COLAB. — *Cancer (Philad.)*, 1971, 28, 1 558—1 562.
- FIDLER H. K., BOYES D. A., WORTH A. J. — *J. Obstet Gynec. Brit. Cwlth.*, 1968, 75, 392.
- GRAFFI A., BIELKA H. — Probleme de oncologie experimentală Ed. Acad. R.P.R., București, 1962.
- HAAGENSEN C. D. — Diseases of the breast, Ed. W. B. Saunders Comp., Philadelphia-Londra, Toronto, 1971, p. 88.
- HELMBOLD W. — *Acta Genetica (Basel)*, 1961, 11, 29.
- HIGGINSON J. — *IARC-Lyon*, 1977, 15—26.
- IMREH PARASCHIVA — Bacteriile și cancerul, în: Cancerul și mediul ambiant, în *Enciclopedia Oncologică* Ed. Inst. Onc. Cluj-Napoca, 1980, p. 423—426.
- LANCASTER M. C., KENKINS F. P., PHILLIP J. — *Nature*, 1961, 192, 1 095—1 096.
- LIPSETT B. M. — *J. Amer. med. Ass.*, 1977, 237, 11, 1 112—1 115.
- LOWENFELS A., MARY ANDERSON — *Cancer (Philad.)*, 1977, 39, 1 809—1 814.
- LYNCH H. T., KRUSH A. J., LARSEN A. L. — *Amer. J. Med. Sci.*, 1967, 254, 322.
- LYNCH H. T., KRUSH A. J. — *Surg. Gynec. Obstet.*, 1971, 132, 247—250.
- LYNCH H. T., GUIRIS A. A., ALBERTS S. — *Surg. Gynec. Obstet.*, 1974, 138, 717—724.
- MAJUPURIA J. C., GUPTA L. C. — *J. Obstet. Gynec. India*, 1966, 16, 64.
- MATEEA E. — *Acta urol. belg.*, 1960, 20, 314.
- MUNTEANU S., CHIRICUȚĂ I. — Poluarea sexuală și cancerul colului uterin, în: Cancerul și mediul ambiant, *Enciclopedia Oncol.*, vol. 5, Ed. Inst. Oncol. Cluj-Napoca, 1980, p. 175—190.
- MITTMANN O. — *Krebsarzt*, 1961, 16, 66—74.
- OLĂNESCU G. — Tumorile vezicii urinare, Ed. Acad. R.S.R. București, 1971.
- PETROV N. N., EPSTEIN A. — *Med. Rabotnik*, 1949, 2.

VI.

Addendum*

* Deoarece în perioada în care volumul s-a aflat sub tipar au apărut unele noi descoperiri științifice, acestea sînt expuse în addendum.

Cuprinsul addendum-ului

4. MORFOLOGIA TUMORILOR MALIGNNE — 903
5. CITOLOGIA CANCERELOR, IMPORTANȚA PENTRU DIAGNOSTIC
ÎN CLINICA TUMORILOR MALIGNNE — 913
7. PROCESUL DE METASTAZARE — 914
9. ONCOGENEZA CHIMICĂ — 917
10. ONCOGENEZA VIRALĂ — 921
11. VIRUSURILE ONCOGENE UMANE — 934
17. ALIMENTAȚIA ȘI CANCERUL — 940
18. FUMATUL ȘI CANCERUL — 944
27. MARKERII BIOLOGICI ÎN CANCER — 947
28. VÂRSTA ȘI CANCERUL — 950

4.

Morfologia tumorilor maligne

Factori anatomopatologici cu valoare prognostică în cancerul mamar

Necesitatea instituirii unui tratament adecvat și a evaluării șanselor de supraviețuire a bolnavelor cu cancer mamar a impulsat studii retrospective axate pe corelarea aspectelor morfologice ale carcinoamelor acestei glande cu evoluția clinică a pacientelor. Factorii anatomopatologici cu valoare prognostică în cancerul mamar sînt: metastazele ganglionilor axilari, dimensiunile tumorii primare, caracterele marginilor tumorii, tipul histologic al acesteia, gradul histocitologic de malignitate, reacția celulară din stroma tumorală, invazia neoplazică a vaselor sangvine, modificările reactive ale ganglionilor loco-regionali (Donegan și Spratt, 1979).

Dimensiunea tumorii primare

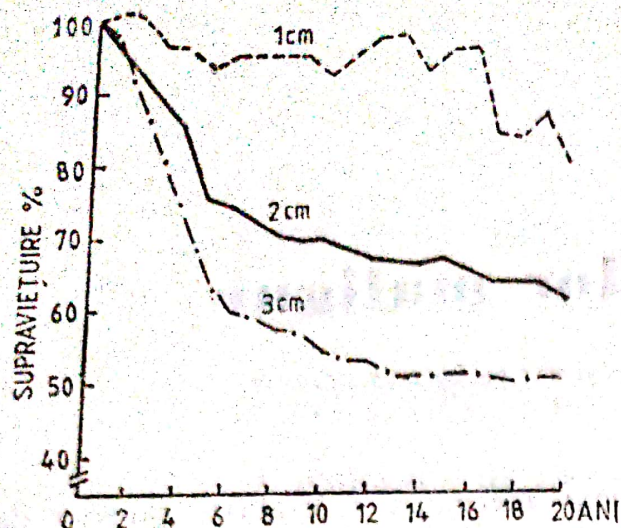
Observațiile acumulate de-a lungul ultimelor decenii au impus conceptul conform căruia prognosticul este cu atît mai nefavorabil cu cît cancerul mamar este mai voluminos, iar rezultatele terapeutice sînt cu atît mai bune cu cît tumoarea este diagnosticată și îndepărtată mai timpuriu, de preferință în stadii în care dimensiunea acesteia nu depășește 5 mm. Dimensiunea de 5 mm reprezintă limita superioară ce definește așa numitul „cancer minimal”, noțiune introdusă de Gallagher și Martin (cit. Fisher și col. 1969) și care reunește carcinoamele invazive cu diametru mai mic de 5 mm și variantele in situ, intraductale și lobulare.

Încă în 1941 Eggers (cit. de Brux, 1979) constată că supraviețuirea la 5 ani a pacientelor cu tumori mai mici de 2 cm este de 73%, scade la 24% cînd diametrul tumoral este de 3—6 cm și la 16% cînd acesta depășește 7 cm. Ilustrativă pentru semnificația prognostică a acestui parametru este reprezentarea grafică a supraviețuirii bolnavelor cu tumori de 1,2,3 cm, aparținînd lui Brinkley, 1976 (după de Brux, 1979) (fig. 4.22.).

Se admite în general că tumorile avînd diametru de 4 cm sau mai mare de 4 cm sînt adesea pluricentrice, invadează limfaticile, vasele sangvine, ganglionii limfatici, prezintă un grad nuclear de malignitate ridicat, în contrast cu tumorile mai mici de 2 cm în diametru, al căror grad nuclear de malignitate este mai redus (de Brux, 1979).

Valoarea prognostică a dimensiunii tumorale nu este însă confirmată în unanimitate. Bloom (cit. de Brux, 1979), de exemplu, constată existența

Fig. 4.22. — Supraviețuirea în cancerul mamar cu diametrul de 1–3 cm (după Brinkley, 1976, citat de Brux, 1979).



unor cazuri cu tumori de 2 cm avînd o evoluție mai nefavorabilă decît a celor cu tumori mai voluminoase. Hamlin (1968) nu stabilește nici o relație între dimensiunea tumorii și mortalitate.

Caracterele marginilor tumorii

Explorînd cu lupa secțiunile histopatologice, Lane și col. (cit. de Brux, 1979) stabilesc 2 tipuri de cancer mamar în funcție de marginile acestora, respectiv raporturile lor cu țesutul mamar, variații ce se corelează semnificativ cu metastazarea ganglionară și supraviețuirea pacienților: — tumori circumscrise, bine delimitate printr-o pseudocapsulă fibroasă, care cresc expansiv dislocînd parenchimul mamar și — tumori infiltrative, cu contururi neregulate, stelate, datorate prelungirilor care invadează țesutul mamar și adipos adiacent.

Tumorile cu margini circumscrise se asociază unei supraviețuiri la 10 ani de 80% și o metastazare redusă în ganglionii axilari, în timp ce tumorile infiltrative prezintă supraviețuire de numai 38% și o metastazare mult mai frecventă.

Tipul histologic al tumorii

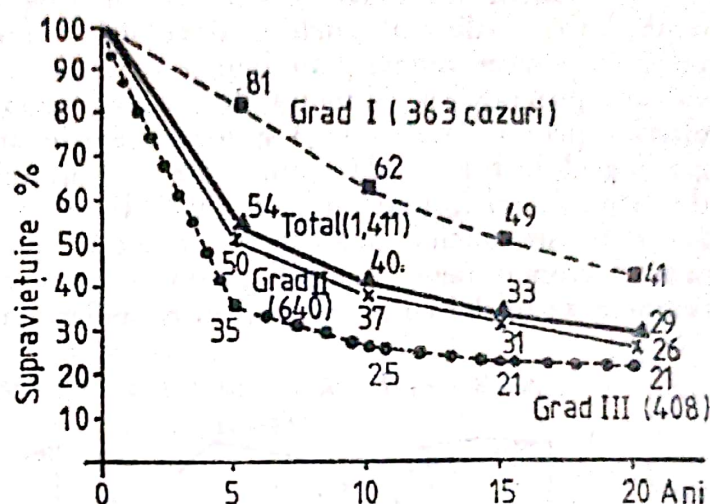
Tipul histologic al cancerului reprezintă un indicator prognostic valoros. Utilitate unanim recunoscută dovedește clasificarea lui Ackerman (1964), conform căreia carcinoamele mamare sînt departajate în 4 tipuri histologice definite prin caracterul lor neinvaziv sau invaziv și capacitatea de metastazare în ganglionii loco-regionali, tipuri reflectînd grade progresiv crescînde de malignitate, de la I la IV (vezi capitolul 4). Scăderea progresivă a procentajului de supraviețuire la 5 ani postoperator, de la tipul I la tipul IV, constatată printre alți autori și de Galatar și Galatar (1981) (vezi capitolul 4), subliniază convingător valoarea prognostică a acestui parametru.

Grading-ul histocitologic de malignitate

Grading-ul histocitologic este cea mai larg utilizată și valoroasă metodă de evaluare prognostică a carcinoamelor mamare invazive. Sistemul de grading

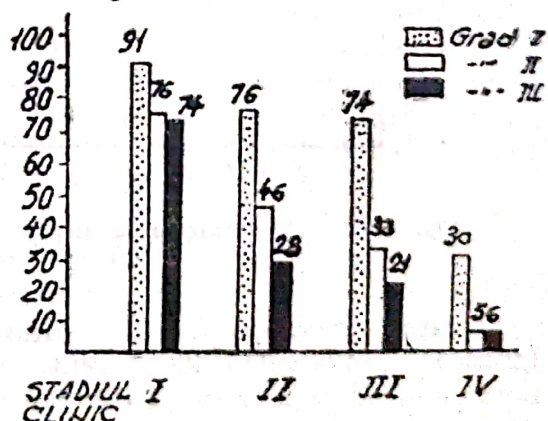
utilizat în Institutul Oncologic Cluj-Napoca a fost elaborat sub egida OMS și se bazează pe criteriile propuse de Bloom și Richardson (1957) (cit. Simu, 1977). Constă în aprecierea nivelului de diferențiere histoarhitecturală (formare de glande) și celulară (formă, dimensiuni, colorabilitate nucleară, număr de mitoze), parametri în funcție de care carcinoamele se clasifică în: tumori bine diferențiate, tumori cu diferențiere medie și tumori nediferențiate, corespunzând la 3 grade diferite de malignitate: gradul I, cu malignitate redusă; gradul II, cu malignitate medie și gradul III, cu malignitate ridicată. Pentru detaliile după care se stabilește gradul de malignitate recomandăm consultarea capitolului 4.

Fig. 4.23. — Supraviețuirea în funcție de gradul histologic de malignitate (Bloom și Field, 1971, citat de Brux).



Curbele de supraviețuire a pacienților cu carcinoame mamare fără metastaze ganglionare, urmărite 20 de ani de Bloom și Field (cit. de Brux, 1979) demonstrează valoarea prognostică a grading-ului histocitologic. La 5 ani trăiesc 81% din bolnavele cu tumori de gradul I, față de 35% din cele cu tumori de gradul III; la 10 ani trăiesc 63% din paciențele cu tumori de gradul I și 25% din cele cu tumori de gradul III; iar la 20 de ani, 41% pentru tumorile de gradul I și 21% pentru cele de gradul III (fig. 4.23). Pentru tumorile de grad I scăderea ratei de supraviețuire este lentă și con-

Fig. 4.24. — Supraviețuirea la 5 ani în raport cu stadiul clinic și gradul histologic de malignitate (Bloom și Field, 1971, citat de Brux).



stantă, iar pentru tumorile de gradul III, mortalitatea din primii ani este importantă (35% la 5 ani), ulterior se stabilizează ajungând la 21% după 20 de ani.

Acuratețea evaluării prognostice a acestui parametru crește considerabil prin coroborarea cu stadiul clinic. Din reprezentările grafice ale lui Bloom

și Field (de Brux) (fig. 4.24.) rezultă că supraviețuirea la 5 ani a pacienților cu cancer de grad I histologic și stadiu I clinic este remarcabilă (91%), că stadiile clinice III cu grad histologic I au un prognostic mai bun (supraviețuire de 74%) decât stadiile II cu grad histologic II (46%) sau III (28%).

Grading-ul nuclear

Cercetările lui Black și col. (1975), care au relevat corelația netă existentă între grading-ul nuclear al celulelor tumorale și supraviețuirea bolnavelor cu cancer mamar, au impus acest parametru printre factorii cu certă valoare prognostică. Sistemul de grading propus de Black a fost simplificat ulterior prin reducerea la 3 grade și ierarhizarea acestora în concordanță cu grading-ul histologic de malignitate: — gradul I este atribuit nucleilor bine diferențiați, mici, uniformi, cu nucleoli puțin vizibili și mitoze rare; gradul III definește nucleii anaplazici, de aspect polimorf, cu anizonucleoză, condensări cromatinene, nucleoli proeminenți și mitoze frecvente; iar gradul II, desemnează nuclei cu proprietăți intermediare precedentelor grade.

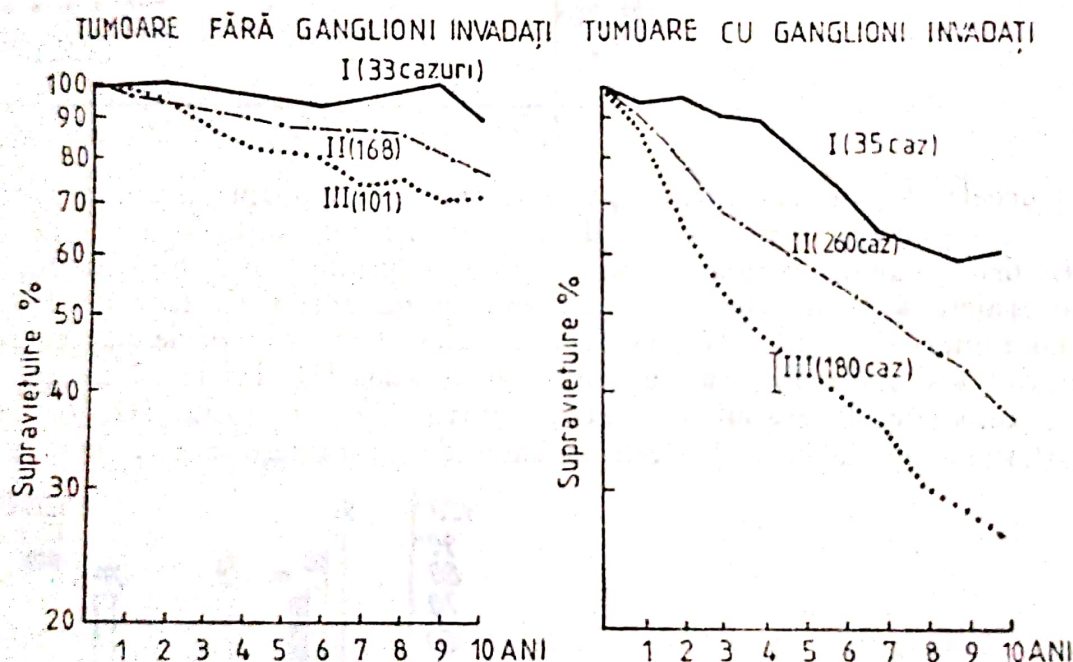


Fig. 4.25. — Supraviețuirea în funcție de gradingul nuclear de malignitate (Cutler, 1969, citat de Brux).

Datele statistice indică raritatea tumorilor cu nuclei bine diferențiați (grad I), prevalența (60%) celor cu nuclei de grad intermediar de diferențiere și încadrarea a 30% din tumori în gradul III, cu nuclei anaplazici, de obicei tumori voluminoase prezentând invazie vasculară și metastaze ganglionare. Supraviețuirea la 10 ani este de 75% în rândul pacienților cu tumori de grad I nuclear, 45% pentru pacientele cu tumori de grad II nuclear și 26% pentru cele cu tumori de grad III nuclear (Black și col. 1975). Rezultate similare, însă cu valori mai ridicate prezintă și Cutler (cit. de Brux, 1979) (fig. 4.25).

Invazia vasculară sangvină

Penetrarea celulelor canceroase în vasele sangvine și limfatice reprezintă unul din cei mai fideli indicatori prognostici ai cancerului în general. Invazia vasculară în cancerul mamar prezintă o incidență variind mult de la un autor la altul (5% — de Brux, 1979; 21% — Kister, cit. de Brux; 35% — Weigand și col. 1982) în funcție de criteriile de diagnostic.

Tumorile mamare cu invazie vasculară prezintă întotdeauna un grad ridicat de malignitate histologică, metastaze ganglionare axilare numeroase, necroză extinsă și sînt încadrate în mod automat în tipul IV al clasificării lui Ackerman, indiferent de forma histopatologică.

Într-un studiu pe 175 cancere mamare din care 35% prezentau invazie vasculară, Weigand și col. (1982) stabilesc semnificația acestui parametru ca indicator al recidivelor timpurii. La 3 ani postoperator, recidivele apar la 52% din pacientele cu tumori avînd invazie vasculară și numai la 19% din cele ale căror tumori nu prezintă fenomenul invaziei vasculare. Coroborarea invaziei vasculare cu metastazarea în ganglionii axilari, îi conferă acestui parametru o valoare prognostică cu certe valențe discriminatorii. Astfel, rata recidivelor la pacientele cu invazie vasculară este puternic influențată de situația ganglionilor axilari. Paciente cu invazie vasculară și fără metastaze ganglionare sau cu metastază într-un singur ganglion prezintă o proporție a recidivelor apropiată de a celor lipsite de invazie vasculară (15% în prima conjunctură și 20% în cea de a doua), pe cîtă vreme cele avînd metastaze în 2 sau mai mulți ganglioni manifestă la 2 ani postoperator o rată foarte ridicată a recidivelor (70%).

Din studiul lui Weigand și col. (1982) se poate conchide că pacientele prezentînd fie numai invazie vasculară, fie numai metastaze în 2 sau mai mulți ganglioni, ca și cele la care parametrii enumerați nu sînt identificați, manifestă un risc relativ scăzut de recidive timpurii, în timp ce pacientele avînd prezenți ambii parametri manifestă un risc de recidivare extrem de ridicat.

Supraviețuirea este la rîndul ei influențată semnificativ de invazia vasculară. Astfel, supraviețuirea la 10 ani a pacientelor cu invazie vasculară, identificată la 21% din seria de 328 cazuri și metastaze ganglionare concomitente (33% din același lot) este de doar 33%, contrastînd cu procentul de 78% înregistrat de grupul de paciente la care cei doi parametri sînt absenți (Kister și col. 1966, cit. de Brux).

Infiltratul inflamator al stromei carcinoamelor mamare

Reacția inflamatorie din stroma tumorilor a fost introdusă în lista criteriilor de evaluare a prognosticului acestora de Sistrunk și Mc Carthy, în 1922 (cit. de Brux), luată în considerare de Black și col. (1975) și mulți alți autori. Berg (1963) găsește infiltrația limfocitară la 73% din carcinoamele anaplazice care răspund bine la tratament și doar în 27% din cazurile luate la întîmplare. Același autor consideră că prezența infiltratului limfocitar la periferia unui carcinom puțin diferențiat corectează, cel puțin în parte, prognosticul prost al acestuia.

Evoluția favorabilă a carcinoamelor medulare este pusă în relație cu abundența infiltrației limfocitare stromale, peritumorale și perivenoase, veri-

tabilă reacție de apărare a organismului față de neoplazie. Această evoluție favorabilă este ilustrată de supraviețuirea la 20 de ani a 67% din paciențele cu carcinoame medulare de gradul III de malignitate, în contrast cu supraviețuirea a doar 21% din bolnavele prezentând carcinoame de același grad de malignitate însă de diverse alte tipuri histopatologice.

Black și col. (1975) fac distincția dintre infiltratul difuz stromal, avînd o compoziție celulară mixtă — limfocite și plasmocite — identificat în general în cancerele cu grading nuclear ridicat și infiltratul perivenos format exclusiv din limfocite mici, reprezentînd expresia unor răspunsuri imunologice diferite, producție de anticorpi în primul caz și hipersensibilitate celulară, în cel de al doilea caz.

Scarf și Torloni (1968); Sommers (1969) (cit. de Brux) nu înregistrează nici o diferență prognostică între carcinoamele cu și fără infiltrație inflamatorie stromală. Studiul complex efectuat de Hamlin (1968) pe 272 de cazuri, departajate pe 3 grade în funcție de densitatea și morfologia infiltrației celulare stromale, corelată cu alți factori prognostici, clinici — anatomopatologici, în vederea stabilirii unui index al rezistenței organismului, nu a adus clarificarea scontată.

Aplicarea tehnicilor imunologice în studiul infiltrației celulare stromale din tumori sugerează existența unei relații între transformarea limfocitelor ganglionare și parametri histologici ai cancerului de sîn (Fisher și col. 1973, cit. de Brux; Richters și Sherwin, cit. de Brux) constată o intensă activitate limfocitară, implicînd citotoxicitatea, în culturi de celule canceroase puse în contact cu celule ganglionare, ca și în culturi de țesut tumoral prezentînd infiltrație limfocitară stromală.

Un interes particular au suscitat, în cadrul reacției celulare stromale, mastocitele. Cercetările întreprinse de Simu (1977) asupra mastocitelor din țesutul tumoral și ganglionii axilari ai bolnavelor de cancer mamar, au arătat creșterea numerică a acestora și prevalența formelor tinere în cazurile fără metastaze și dimpotrivă scăderea numărului mastocitelor, cu predominanța formelor mature, în cazurile cu metastaze ganglionare. Prevalența mastocitelor tinere ar semnifica o evoluție favorabilă a tumorii surprinsă în faza localizată.

Metastazele ganglionilor axilari

Prezența metastazelor în ganglionii limfatici loco-regionali, reflectînd invazivitatea tumorii, reprezintă unul dintre cei mai valoroși factori prognostici ai cancerului mamar. Diferențe concludente ale ratei supraviețuirii sînt înregistrate de numeroși autori, între paciențele cu și fără metastaze ganglionare axilare: 43% și respectiv 76%, la 5 ani, pe un lot de 200 cazuri (Simu, 1977); 13% și respectiv 80% la 5 ani și 0%, respectiv 73%, la 10 ani (Handley, cit. Bolooga, 1977).

Mai mult, s-a constatat că numărul ganglionilor metastazați se află într-un raport invers proporțional cu supraviețuirea bolnavelor (Coppin și Swenerton, 1983). Prognosticul este favorabil cînd sînt metastazați pînă la 3 ganglioni și foarte rău cînd metastazele sînt prezente în mai mult de 4 ganglioni (Fisher și col. 1983). Validitatea grupării cazurilor cu metastaze axilare în cele două categorii, cu 1 pînă la 3 ganglioni și respectiv, cu 4 sau mai mulți ganglioni invadați este confirmată de constatarea unei diferențe de 25% a supraviețuirii la 5 ani a pacientelor. Norhman (cit. de Brux)

constată că supraviețuirea la 5 ani a bolnavelor avînd un singur ganglion cu metastază este de 74% și scade la 40% cînd sînt invadați 2 sau mai mulți ganglioni.

Trestioreanu și col. (1981) sesizează că intensitatea invaziei ganglionare apreciată prin procentajul de ganglioni metastazați din totalul ganglionilor evidați influențează semnificativ supraviețuirea la 5 ani, fără recidive, aceasta scăzînd de la 46,5%, cînd sînt metastaze în 25% din ganglionii studiați, la 20% cînd diseminarea implică mai mult de 75% din ganglioni.

Localizarea ganglionilor invadați în etajele axilare: inferior, sub pectoralul mic; mijlociu, deasupra acestui mușchi; superior, la apexul axilei, prezintă de asemenea semnificație prognostică, după cum demonstrează Mc Divitt și col. (cit. Donegan și Spratt, 1979). Utilizînd metoda limfadenogramei axilare, Chiricuță-Simu, care oferă o imagine clară asupra dinamicii invaziei ganglionare în cancerul mamar (vezi capitolul 4), Chiricuță și col. 1974 (cit. Simu, 1977) au arătat că supraviețuirea la 5 ani este de 58% cînd sînt interesați numai ganglionii din treimea inferioară a axilei și de 29% în situația invadării ganglionilor din treimea superioară a axilei. În opinia aceluiași autori, metastazarea ganglionilor apicali ai axilei comportă un prognostic extrem de defavorabil, mai ales cînd neoplazia invadează capsula ganglionară și țesutul periganglionar. Prin contrast, evoluția bolii în cazurile cu metastaze în 1—3 ganglioni ai bazei axilei nu diferă esențial de cea a pacienților fără metastaze ganglionare (Contesso, și col. 1975).

După Donegan și Spratt (1979), Smith (cit. de Brux, 1979) și alți autori, semnificație prognostică are mai degrabă numărul absolut al ganglionilor cu metastaze decît proporția lor din totalul ganglionilor evidați sau decît etajul axilar implicat.

Metastazele ganglionare și dimensiunea tumorii primare

Dimensiunea tumorii primare se corelează semnificativ cu metastazarea ganglionară (Coppin și Swenerton, 1983). Say și Donegan (1974) constată că în cazurile tratate chirurgical, frecvența metastazelor ganglionare axilare crește în paralel cu creșterea diametrului tumorii, determinînd o scădere progresivă a supraviețuirii la 5 ani și 10 ani (tabelul 4.XVIII). Totuși, autorii citați nu înregistrează nici o diferență de dimensiune a tumorii, statistic semnificativă, între cazurile cu și fără metastaze ganglionare.

Deși clasic se consideră că tumorile de dimensiuni foarte mici metastazează rareori în ganglionii axilari, Parker și Lee (cit. de Brux, 1979) iden-

TABELUL 4.XVIII.

SUPRAVIEȚUIREA ÎN FUNCȚIE DE DIMENSIUNEA TUMORILOR
ȘI METASTAZELE GANGLIONARE
(SAY ȘI DONEGAN, 1974 — CITAT DE BRUX)

Dimensiunea tumorii	Nr. cazuri	% ganglioni axilari metastazați	Supraviețuire (%)	
			5 ani	10 ani
0—1,9 cm	101	32,7	63,6	48,3
2—2,9 cm	196	51,0	64,6	40,0
3—3,9 cm	210	63,8	46,7	29,1
4—5,9 cm	336	68,8	43,3	21,9
6,0 cm	190	71,1	28,5	17,0

tifică fenomenul în 60% din cazuri, Smart (cit. Rosen și col. 1980) găsește metastaze în 20,2% din cazurile cu tumori de 0,5—0,9 cm diametru. Mai mult, metastazele ganglionare au fost identificate la 1% din pacientele cu carcinoame preinvazive, diagnosticul fiind impus de imposibilitatea demonstrării invaziei, logic prezente în cazurile date (Rosen și col. 1980).

Metastazele ganglionare și grading-ul histologic de malignitate

Corelarea metastazării ganglionare cu gradul histologic al malignității mărește sensibil acuratețea evaluării histopatologice a prognosticului cancerului mamar; evidențiază diferențe prognostice notabile între cancerule de gradul I și III. Supraviețuirea la 5 ani a cazurilor cu metastaze, având tumori de gradul I este de 66% și de numai 19% pentru cele de gradul III, scade apoi progresiv, ajungând la 20 de ani de 9% pentru tumorile de gradul I și de 5% pentru cele de gradul III (fig. 4.26). Cazurile fără metastaze

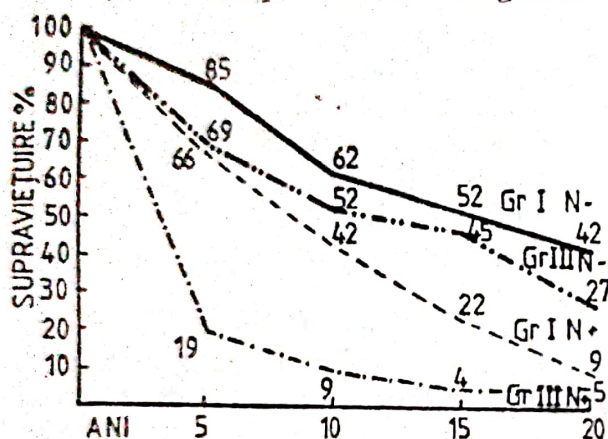


Fig. 4.26. — Supraviețuirea în raport cu gradul histologic de malignitate al cancerelor cu și fără metastazare ganglionară (Bloom, 1965, citat de Brux).

au o supraviețuire mai bună pentru toate gradele histologice de malignitate: 85% pentru tumorile de gradul I și 69% pentru cele de gradul III, la 5 ani și respectiv, 42% și 27% pentru aceleași grade de malignitate, după 20 de ani (Bloom, 1965, cit. de Brux 1979).

Modificări reactive ale ganglionilor nemetastazați

Majoritatea autorilor acordă importanță prognostică morfologiei ganglionilor nemetastazați, modificărilor reactive ale acestora, cum sînt: histiocitoza sinusală, hiperplazia centrilor germinativi foliculari, predominanța limfocitară și depleția limfocitară.

Histiocitoza sinusală, caracterizată prin dilatația sinusurilor umplute cu celule mari, avînd limite imprecise, citoplasmă eozinofilă, nuclei veziculoși, reprezintă un mod de reacție a ganglionilor rareori întâlnită în afara cancerului. Poate îmbrăca aspecte particulare, cum sînt: histiocitoza sincițială sau pseudotuberculoasă datorată apariției celulelor epitelioides și gigante multinucleate, apoi histiocitoza degenerativă. Participarea acestei reacții în relația organism-tumoare este confirmată de supraviețuirea îndelungată postoperatorie și de prognosticul mai bun al cazurilor cu adenopatie bilaterală, comparativ cu al celor avînd adenopatie unilaterală.

Supraviețuirea în cancerule nemetastazate nu prezintă diferențe semnificative între cazurile cu histiocitoză de grad redus și mediu, dar la bolnavele cu metastaze ganglionare supraviețuirea la 10 ani variază considerabil

în raport cu intensitatea histiocitozei, evaluată pe 3 grade: este de 78% pentru histiocitoza intensă, de 52% pentru cea medie și de 35% pentru cea scăzută (fig. 4.27) (Cutler, 1969, cit de Brux, 1979).

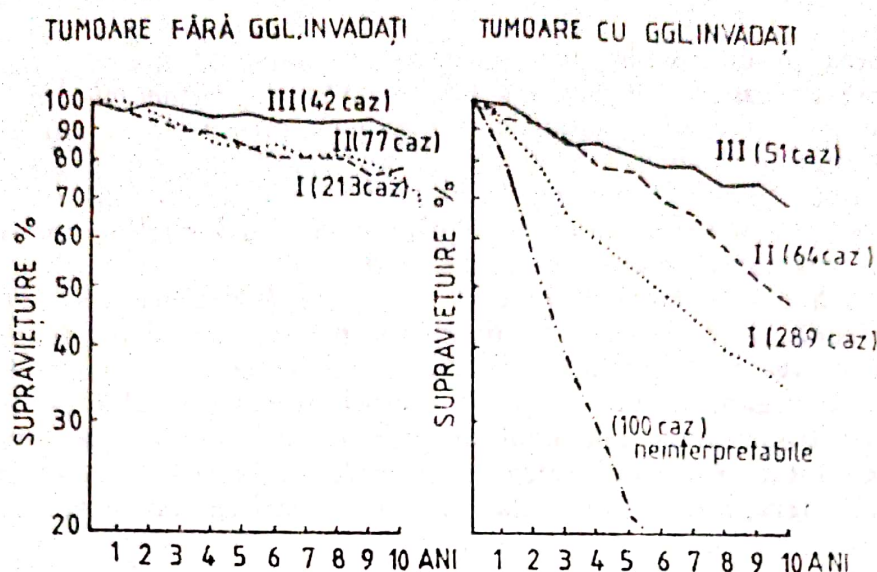


Fig. 4.27. — Supraviețuirea în cancer cu histiocitoză sinusală (cu și fără metastaze ganglionare) (Cutler, 1969, citat de Brux).

Corelația dintre celelalte modificări reactive ganglionare și supraviețuirea pacienților a fost stabilită de Tsakralides și col. 1974 (tabelul 4.XIX). Evoluția cea mai bună a fost înregistrată la pacienții ai căror ganglioni prezintă predominanță limfocitară, caracterizată prin creșterea apreciabilă a numărului limfocitelor din diverse arii arhitecturale ale ganglionilor ca expresie a reacției imune de tip celular.

După Hunter (cit. de Brux, 1979), histiocitoza sinusală pură și sincițială indică un prognostic favorabil, comparativ, hiperplazia centrilor germinativi foliculari neinfluențând supraviețuirea.

Se presupune că procesul reactiv debutează la multe pacienți cu histiocitoză, care împiedică o perioadă de timp apariția metastazelor. Ulterior, concomitent cu degenerarea celulelor histiocitare, survine hiperplazia centrilor germinativi, al căror efect defavorabil accelerează metastazarea. Hiperplazia centrilor germinativi este indusă de un stimul antigenic diferit, provenind probabil nu din celulele canceroase vii, ci din debriuri celulare și ne-

TABELUL 4.XIX

SUPRAVIEȚUIREA LA 5 ANI ÎN RAPORT CU TIPUL HISTOLOGIC AL REACȚIEI GANGLIONARE FĂRĂ METASTAZE (TSAKRALIDES, 1974 — CITAT DE BRUX)

Tipul histologic	Nr. de cazuri		Supraviețuirea (%)
	Total	În viață	
Predominanță limfocitară	149	125	84 (77—89)
Predominanță de centri germinativi	47	34	72 (57—83)
Depleție limfocitară	11	4	36 (11—74)
Ganglion nestimulat	70	44	63 (51—74)
Total	277	207	75 (69—80)

croză. Concentrația ridicată a anticorpilor blocați pe care o conține centrul germinativ folicular explică prezența metastazelor în imediata lor vecinătate.

Evaluarea prognosticului histopatologic în cancerul mamar, ca în orice altă varietate de cancer, se bazează pe interpretarea elementelor morfologice intrinseci tumorii și a unor modificări regionale reflectând în parte reactivitatea organismului. Evident prognosticul histopatologic nu poate fi stabilit pe baza unui singur factor dat fiind faptul că nici unul dintre indicatorii enumerați nu are valoare absolută. Coroborarea mai multor factori ridică semnificativ acuratețea prognosticului histopatologic.

Valoarea acestor factori în general și a grading-ului histocitologic de malignitate în special, se situează în domeniul prognosticului de grup mai degrabă decât în cel al cazurilor individuale. Chiar corelat cu alți factori ce definesc starea organismului, ca și cu factori aferenți tipului de tratament, prognosticul histopatologic este doar un ghid și nu o metodă de prezicere infailibilă a evoluției bolii. Utilitatea sa se etalează îndeosebi în alegerea celei mai adecvate terapii în cazul dat și în urmărirea eficienței acesteia.

V. Gădăleanu

Bibliografie

- BERG J. — Inflammation and prognosis in breast cancer, search of host resistance, *Cancer (Philad.)*, 1963, 12, 714—720.
- BLACK M. M., BARCLAY T. H. C., HANKEY B. F. — Prognosis in breast cancer utilising histologic characteristics of the primary tumor., *Cancer (Philad.)* 1975, 36, 2 048—2 055.
- De BRUN. J., HOLLMANN K. H. — Facteurs anatomo-cliniques de pronostic, p. 172; Morphologie et pronostic des adénopathies des cancers de sein, p. 193; In idem, *Histopathologie du sein.*, Masson et Cie, Paris, 1979.
- CONTESSO G., ROUESSE J., GENIN J. — L'envahissement ganglionnaire loco-régional des cancers du sein, *Bull. Cancer.*, 1975, 62, 4, 359—372.
- COPPIN C. M. L., SWENERTON K. D. — Prognostic factors and predictors of response in breast cancer., *Rev. Endocr.-related canc.*, 1983, 15, 23—31.
- DONEGAN W. L., SPRATT J. S. — Clinicopathological correlation, p. 183, in „Cancer of the breast“, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1979.
- FISHER B., SLACK B. N. H., BROOS I. C. — Cancer of the breast. Size of the neoplasms and prognosis, *Cancer (Philad.)* 1969, 24, 1 071—1 080.
- FISHER B., BAUER MADELINE, WICKERHAM L. D., REDMOND C. K., FISHER E. R. și colab. — Relation of number of positive axillary nodes to the prognosis of patients with primary breast cancer. An NSABP update., *Cancer (Philad.)*, 1983, 52, 9, 1 551—1 557.
- HAMLIN I. M. E. — Possible host resistance in carcinoma of the breast. A histological study, *Brit. J. Cancer.*, 1968, 22, 383—401.
- ROSEN P. P.; BRAUND W. jr., KINNE D. E. — The clinical significance of pre-invasive breast carcinoma., *Cancer (Philad.)*, 1980, 46, 919—925.
- SAY C. C., DONEGAN W. L. — Invasive carcinoma of the breast. Prognostic significance of tumor size and involved axillary lymph nodes, *Cancer (Philad.)*, 1974, 34, 468—471.
- TRESTIOREANU A., BALANESCU J., DUȚU RODICA, MOTAND., GRIGORESCU-TULCEA N. — Starea ganglionilor axilari și importanța lor în aprecierea prognostică a cancerului glandei mamare, in „Cancerul sinului. Experiența românească“, Colecția „Enciclopedia oncologică“, vol. 7, Cluj-Napoca, 1981, p. 455—461.
- TSAKRAKLIDES V., OLSON P., KERSEY J. H., GOOD R. A. — Prognostic significance of the regional lymph node histology in cancer of the breast, *Cancer (Philad.)*, 1974, 34, 1 259—1 267.
- WEIGAND R. A., ISENBERG W. M., RUSSO J., BRENNAN M. J., RICH M. A. — Blood vessel invasion and axillary lymph node involvement as prognostic indicators for human breast cancer, *Cancer (Philad.)*, 1982, 50, 5, 962—969.

Citologia cancerelor

Interpretarea puncției ganglionare

Diagnosticul citologic al naturii unei adenopatii se bazează pe studiul celulelor individuale și pe aspectul de ansamblu al frotiului.

Populația celulară proprie a ganglionului constă în cea mai mare parte din limfocite adulte mici și medii și din rari limfoblaști, celule reticulare, histiocite, plasmocite, granulocite și monocite. Deși teoretic proporția acestor elemente poate prezenta unele variații, în funcție de zona ganglionară puncționată (corticală, medulară, sinus), tabloul citologic este însă totdeauna dominat de limfocitele mature.

În *limfadenitele reactive* frotiul citologic se caracterizează printr-o populație celulară polimorfă în care predomină limfocitele transformate blastic până la stadiul de imunoblast, la care se poate asocia un număr variabil de histiocite fagocitare și nefagocitare, plasmocite, granulocite și monocite. Compoziția celulară diferă în funcție de natura reacției. În infecțiile purulente se întâlnesc numeroase granulocite și macrofage. În limfadenitele granulomatoase frotiul conține conglomerate de celule epitelioidale și rare celule gigante multinucleate de tip Langhans.

Spre deosebire de limfadenitele reactive, *limfoamele maligne non-Hodgkin* se caracterizează printr-o populație celulară monomorfă reprezentată de proliferarea unui anumit tip celular: limfocit mic, mare, clivat, neclivat, limfoblast, imunoblast sau histiocit. Celulele care proliferază prezintă însă o serie de caractere care pledează pentru malignitate: nuclei măriți de volum, cu indice nuclear crescut, mitoze atipice, nucleoli neobișnuiți. Aceste caractere sînt cu atît mai exprimate și deci mai ușor de identificat, cu cît celulele hiperplaziate sînt mai puțin diferențiate. Diagnosticul de limfom este mai dificil în limfoamele maligne, cu celule mici, rotunde și atipii ușoare. După Zajicek (1977), aproximativ 20% din aceste forme de limfoame nu pot fi diagnosticate prin examen citologic.

Diagnosticul de *limfom Hodgkin* este relativ ușor, atingînd o acuratețe de 70% (Zajicek, 1979) atunci cînd tabloul citologic este caracteristic: populație celulară polimorfă alcătuită din limfocite, histiocite, eozinofile, plasmocite și celule Reed-Sternberg. Acestea din urmă sînt celule mari, uneori gigante, cu nucleu segmentat sau multiplu, cu nucleoli voluminoși ce pot atinge dimensiunile eritrocitelor. Prezența lor este esențială pentru diagnosticul de limfom Hodgkin. În formele cu predominanță limfocitară, în care celulele Reed-Sternberg tipice sînt rare sau absente, diagnosticul este mai dificil. În aceste cazuri tabloul citologic, dominat de limfocite și histiocite, unele cu nuclei bilobați, poate fi confundat ușor cu cel al unei limfadenite reactive.

Metastazele ganglionare pot fi diagnosticate prin puncție în peste 90% din cazuri (Zajicek, 1979). Ele pot fi identificate cu ușurință atunci cînd se prezintă sub formă de aglomerări sau placarde celulare. În cazul unei metastaze cu punct de plecare necunoscut anumite particularități morfologice, precum și aranjamentul celulelor metastatice (în ciorchine, papile etc.), ne pot da indicații asupra originii lor.



Dacă însă celulele metastatice sînt izolate în masa de celule limfatice, aprecierea naturii lor este mai dificilă.

Datorită multiplelor dificultăți în interpretarea caracterului modificărilor celulare din puncția ganglionară, metoda nu are pretenția de a stabili un diagnostic de certitudine, examenul histopatologic fiind obligatoriu în toate cazurile cu suspiciune citologică.

Natalia Galatâr

Bibliografie

- MACAVEI I. — Puncția ganglionară, în „Cancerul — hemopatii maligne”, Colecția „Enciclopedia oncologică”, vol. 10, Cluj-Napoca, 1982, p. 37—40.
 ZAJICEK J. — Aspiration Biopsy Cytology, *Lymphology*, 1977, 10, 2, 94—101.
 ZAJICEK J. — The aspiration biopsy smear, in „Diagnostic cytology and its histopathologic bases” (sub red. Koss L. G.), vol. 2, J. B. Lippincott Co. Philadelphia-Toronto, 1979, p. 1 001—1 100.

7.

Procesul de metastazare

Cercetările ultimilor ani demonstrează că proprietățile intrinseci ale celulelor tumorale (constituenții biochimici membranali, sarcinile electrice de suprafață, deformabilitatea și activitatea locomotorie precum și proprietățile tromboplastice — fibrinolitice) joacă un rol esențial în formarea metastazelor.

Pe de altă parte, factorii legați de terenul gazdă (capacitățile reactive imune, starea hormonală, anomaliiile de hemodinamică, hipercoagulabilitatea, factorii trombocitari etc.) își au contribuția lor, cel puțin egală cu a celulelor tumorale, la desăvîrșirea apariției și evoluției metastazelor (Tsubura și colab., 1983).

Cunoașterea în detaliu a fiecărui factor cu potențial de facilitare sau inhibare a diseminării celulelor canceroase este de real interes pentru o conduită terapeutică bazată pe principii fundamentale științifice.

În cele ce urmează vom face o scurtă trecere în revistă a celor mai noi date asupra unor factori implicați în procesul de metastazare.

În diseminarea pe cale hematogenă, una din cele mai importante etape o reprezintă oprirea embolilor tumorali în patul capilar și atașarea lor la endoteliu. Acest proces se realizează pe baza interacțiunii dintre celula canceroasă, trombocite și endoteliul capilar și implică participarea activă a unor subclase de prostaglandine (Honn și colab. 1983; Tisdale 1983; Smith 1983).

Date experimentale și clinice demonstrează că unele tipuri de celule tumorale circulante în sînge induc agregare plachetară. Atît în procesul de menținere a homeostaziei, cît și în cel de agregare trombocitară, un rol de mare importanță (dar nu exclusiv) le revine prostacilinei PGI_2 și tromboxanului A_2 (TXA_2) (Tsubura și colab. 1983; Honn 1983).

Diferiții stimuli proagreganți trombocitari determină eliberarea din trombocite a TXA_2 și astfel, la acest nivel, se inhibă creșterea AMP — ciclic (fig.7.21.).

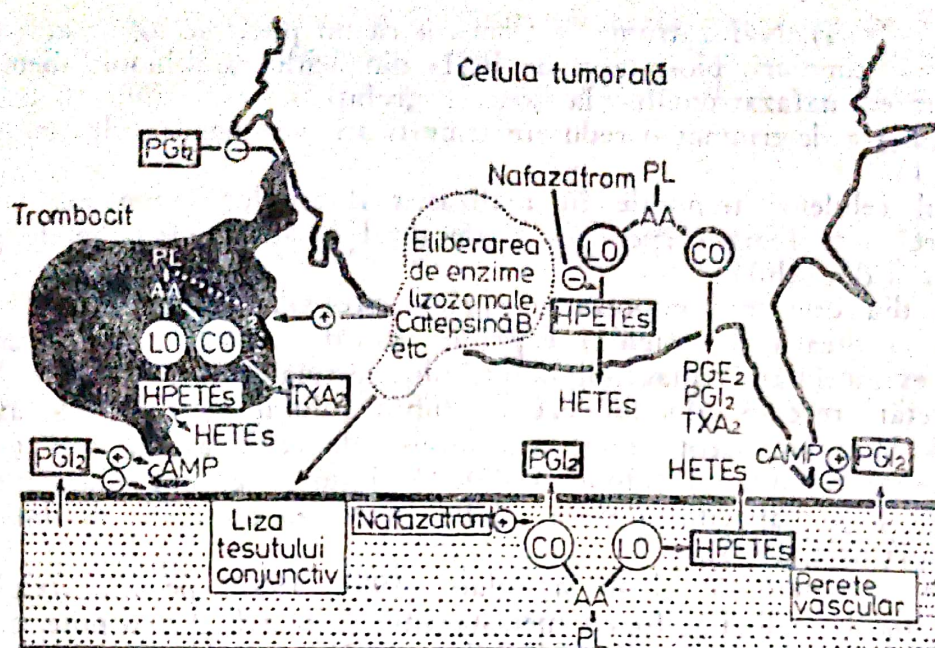


Fig. 7.21. — Interacțiunile dintre celulele tumorale, trombocite (plăcuțe) și peretele vascular. Interacțiuni directe sînt posibile între: trombocite și peretele vascular, celula tumorală și peretele vascular și între celulele tumorale și trombocite. Fiecare factor sau toți împreună pot favoriza oprirea celulelor tumorale și metastazarea. Prostaciclina poate inhiba atașarea celulelor tumorale la trombocite sau la peretele vascular.

Abrevieri: PL = fosfolipide; AA = acid arahidonic; CO = ciclooxigenază; LO = lipoxigenază; HPETE = acizi hidroperoxineicosatetraenici; NETE = acizi hidroxiicosatetraenici; PGI₂ = prostaciclina; TXA₂ = tromboxan A₂. (Honn K.V. și colab. 1983).

La rîndul lor, celulele endoteliului vascular inhibă agregarea plachetară atît prin intermediul unor proteoglicani care învelesc suprafața celulelor endoteliale (efect de tip silicon) cît și prin secreția prostaciclinei PGI₂ (substanță cu acțiune antiagregantă foarte puternică) (Cucuianu 1983).

Potrivit opiniei lui Honn și colab. (1981; 1982; 1983) celulele tumorale circulante în sînge rup echilibrul dintre PGI₂ și TXA₂ în favoarea agregării trombocitare.

Astfel se inițiază un microtromb intracapilar format din celule tumorale și trombocite la care se adaugă apoi elemente figurate din sînge și fibrină.

Ținînd cont de cele afirmate, se înțelege ușor că PGI₂ acționează ca o substanță antimetastatică naturală.

Utilizarea unor produși capabili să potențeze secreția „in vivo” de PGI₂ sau care să prelungească perioada de activitate biologică a acestuia ar putea fi benefică pentru tratamentul focarelor metastatice.

Experimental (la animale purtătoare de tumori) s-a demonstrat că administrarea unor medicamente ce acționează ca antiagreganți trombocitari (aspirina, indometacinul, dipiridamolul) determină o reducere semnificativă a incidenței metastazelor (Gazic și colab. 1973, Hara și colab. 1980, Tsubura 1983).

Honn și colab. (1983) au testat acțiunea antimetastatică a nafazatromului (2,4 — dihidro-5-metil — 2 — [2 (2 — naftiloxi) etil] — 3H — pira-

zol — 3 — onă). Nafazatromul acționează ca un puternic agent antitrombotic datorită stimulării biosintezei de PGI_2 din acidul arahidonic membranar. Administrarea nafazatromului la șoareci grefați s.c. sau i.v. cu celule de melanom B_{16} a determinat o reducere semnificativă a metastazelor experimentale (fig. 1).

Rolul celulelor tumorale în realizarea diferitelor etape ale „cascadei metastatice” este foarte dependent și de tipul enzimelor lizozomale pe care le eliberează din celulă.

Una din cele mai importante enzime proteolitice este catepsina B (o cistein — protează lizozomală) capabilă să degradeze proteoglicanii din matricea extracelulară, collagenul nativ, fibronectina etc.

Cercetări recente aduc dovezi și asupra rolului pe care l-ar avea catepsina B în agregarea trombocitară indusă de celulele tumorale (probabil prin generare de TXA_2) (Honn 1983). Activitatea antimetastatică a PGI_2 se bazează și pe capacitatea de a inhiba eliberarea catepsinei B din celulele tumorale (Tisdale, 1983).

Studii efectuate de Sloan și colab. (1981, 1982) pe linii celulare de melanom B_{16} (linia $\text{B}_{16}\text{F}_{10}$, foarte metastazantă și linia B_{16}F_1 cu potențial redus de metastazare) demonstrează că la linia $\text{B}_{16}\text{F}_{10}$ activitatea catepsinei B a fost de 3—4 ori mai mare decât linia B_{16}F_1 . Recent, Honn și colab. (1983) au demonstrat o bună corelație între activitatea crescută a catepsinei B și potențialul ridicat de metastazare al numeroase tumori experimentale. Activitatea este diferențiată pentru diversele tipuri de catepsine. În invazivitate și metastazare rolul esențial îl deține catepsina B și nu catepsinele H și L.

Pentru proprietatea pe care o dețin celulele tumorale de a induce agregare plachetară, am ales spre exemplificare cel mai bine caracterizat sistem antagonist al agregării (PGI_2 și TXA_2). Dar la întreaga evoluție tumorală, de la creșterea invazivă pînă la constituirea focarelor metastatice la distanță, colaborează o multitudine de factori iar celulele tumorale își manifestă caracterul lor heterogen și prin calea sau căile prin care acționează. Unele subpopulații celulare vor stimula producerea de TXA_2 , altele vor elabora catepsină B etc.

În plus, străpungerea membranelor bazale, epiteliale sau vasculare, necesită activitate collagenolitică de tip IV. Pentru invazia în țesutul conjunctiv activitatea collagenolitică este îndreptată specific față de collagenul de tip I, II sau III. La rîndul ei, activitatea collagenolitică este dependentă și de unele glicoproteine (laminină sau fibronectină) care au capacitatea de a se lega specific, pe de o parte de receptorii membranali ai celulelor tumorale, iar pe de altă parte de diferitele tipuri de collagen (Jones, 1982, Liotta și colab. 1982). Terranova și colab. (1983) au constatat că în general carcinoamele ar utiliza laminina ca molecule de legătură între celula tumorală și collagenul membranelor bazale, în timp ce sarcoamele, ar folosi ca ligan, fibronectina.

În plus, proprietatea pe care o au unele celule tumorale de a elabora activatori de plasminogen și astfel să se inducă fibrinoliză, ar facilita penetrarea și invadarea pereților vasculari și/sau a matricei intercelulare.

La toate acestea, eliberarea din celulele tumorale a factorilor de angieneză capabili să inducă vase de neoformație și stromă, va asigura în plus condiții optime pentru consolidarea focarelor metastatice.

Astfel privită biologia cancerului, avînd tot timpul în minte caracterul heterogen al populațiilor de celule tumorale și multitudinea factorilor care

intervin, în fiecare moment, în evoluția tumorală este ușor de înțeles de ce nu dispunem încă de mijloace terapeutice cu adevărat eficace și care să se interfereze cu totalitatea factorilor răspunzători de malignitate.

Rodica Rișcă

Bibliografie

- GUCULIANU M. — Biochimia clinică a hemostazei. Edit. Dacia, Cluj-Napoca, 1983, p. 17.
GASIC G. J., GASIC T. B., GALANTI N., JOHNSON T., MURPHY S. — *Int. J. Cancer*, 1973, 11, 701–718.
HARA Y., STEINER M., BALDINI M. G. — *Cancer Res.*, 1980, 40, 1 217–1 222.
HONN K. V., GIGONE B., SKOFF A. — *Science*, 1981, 212, 1 270–1 272.
HONN K. V. — Prostacyclin/thromboxane ratios in tumour growth and metastasis, in „Prostaglandins and Cancer”, Alan R. Liss, New York, 1982, p. 733–752.
HONN K. V. — *Clin. exp. Metastasis* 1983, 1, 2, 103–114.
HONN K. V., MENTER D., MOILANEN D., CAVANAUGH P. G., TAYLOR J. D., SLOANE B. F. — Role of prostacyclin and thromboxanes in tumour cell-platelet — vessel wall interactions, in „Protective Agents in Cancer”, Academic Press, New York, 1983, 57–79.
JONES P. A., De CLERCK Y. A. — *Cancer Metastasis Rev.*, 1982, 1, 4, 289–317.
LIOTTA L. A., THORGEIRSSON U. P., GARBISA S. — *Cancer Metastasis Rev.*, 1982, 1, 4, 277–278.
SLOAN B. F., DUNN J. R., HONN K. V. — *Science*, 1981, 212, 1 151–1 153.
SLOAN B. F., HONN K. V., SADLER J. G., TURNER W. A., KIMPSON J. J., TAYLOR J. D. — *Cancer Res.*, 1982, 42, 980–986.
SMITH B. J., WILLS M. R., SOVORY J. — *Ann. clin. Lab. Sci.*, 1983, 13, 5, 359–365.
TERRANOVA V. P., MARTIN G. R., RAO C. N., LIOTTA L. A. — *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.*, 1983, 23, 702.
TISDALE M. J. — *Exp. Cell. Biol.*, 1983, 51, 250–256.
TSUBURA E., YAMASHITA T., SONE S. — *Cancer Metastasis Rev.*, 1983, 2, 223–237.

9.

Oncogeneza chimică

În ultimii doi ani s-au cumulat multe date noi privind mecanismele moleculare ale cancerogenezei chimice multistadiale. Prin studiile efectuate pe culturi de celule, utilizând tehnici moderne de biologie moleculară s-a reușit să se clarifice în parte mecanismele moleculare implicate în interacțiunile sinergice între cancerigeni chimici și promotori tumoralii pe de o parte și între virusuri sau oncogene și agenți cancerigeni chimici, pe de altă parte (Weissman și colab., 1982, 1984).

A existat tendința de a concepe fenomenul de inițiere a transformării în cancerogeneza chimică ca o simplă mutație punctiformă care ar rezulta din erorile în replicarea ADN lezată în urma interacțiunii cu substanțe chimice cancerigene foarte reactive sau cu metaboliți ultimi ai acestora. Cîteva caracteristici ale procesului de cancerogeneză chimică, în special eficiența mare a inducerii transformării, perioada de latență și aspectele multistadiale, nu sînt compatibile cu acest mecanism. Alte mecanisme posibile, prin care leziunile din ADN cauzate de cancerigeni chimici pot induce schimbări mai complexe și mai frecvente în genomul celulei, sînt rearanjările genetice și/sau amplificarea exprimării unor gene. Trebuie să menționăm faptul că și în cursul dezvoltării și diferențierii normale apar amplificări și rearanjări ale genelor, care însă sînt reglate de mecanisme biochimice complexe. Se pre-



supune că substanțele chimice cancerigene acționează prin interacțiunea cu ADN celular și deranjează sau rup aceste mecanisme, determinând astfel apariția unor aberații stabile (Hicks, 1983; Weissman și colab., 1982, 1984).

S-au elucidat de asemenea unele aspecte ale mecanismelor biochimice care stau la baza celei de a doua etape a cancerogenezei chimice, promovarea.

Din punct de vedere biochimic, diferența majoră dintre inițiatori și promotori este că în timp ce inițiatorii (substanțe chimice cancerigene sau metaboliții lor) se leagă covalent la ADN celular, locul primar de acțiune al forbolesterilor (promotori tumorali potenți la nivelul pielii de șoarece) este membrana celulară (Hicks, 1983; Weissman și colab., 1984).

S-au identificat de asemenea recuplări de mare specificitate și afinitate pentru forbolesteri și pentru alte clase noi de promotori (teleocidina și aplisiatoxina), atât în preparate de membrană, cât și în celulele intacte dintr-o varietate de tesuturi de la păsări, rozătoare și om (Delclos, 1980; Fisher, 1982; Harowitz, 1983).

Mecanismele intime prin care acționează acești promotori tumorali după legarea lor de receptori specifici de pe membrana celulară nu sînt complet elucidate. Totuși, sînt specificate efectele forbolesterilor asupra fluxului ionic (Na^+ , Rb^+ , Ca^{2+}), asupra metabolismului fosfolipidelor și în inducerea unor enzime specifice (Weissman și colab., 1982). Fiind cunoscut faptul că producția unor anumite oncogene sînt proteinkinazele, s-a sugerat ideea că medierea efectelor celulare ale acestor promotori tumorali (forbolesteri) s-ar face printr-o proteinkinază specifică. În sprijinul acestei ipoteze vin cercetările recente ale lui Castagna și colab. (1982), care au demonstrat că introducerea de TPA (12-o-tetradecanoilforbol-13-acetat) în concentrații joase, de 1—5 ng/1 ml, stimulează *in vitro* activitatea proteinkinazei C, o proteinkinază dependentă de fosfolipide. Această enzimă este implicată în fosforilarea resturilor de serină și treonină în proteinele celulare specifice care pot fi implicate în mai multe funcții reglatorii celulare, inclusiv exprimarea genei.

Deoarece benzpirenol (BP) sau alte hidrocarburi aromatice policiclice cancerigene (PAH) pot acționa ca un cancerigen complet (deci și inițiază și promovează cancerogeneza chimică) cînd se aplică repetat pe pielea animalelor de experiență, este posibil că acești cancerigeni compleți pot induce anumite efecte asupra membranelor celulare, care sînt similare cu cele induse de forbolesteri, promotori tumorali. S-a demonstrat că într-adevăr, acești compuși BP sau alte PAH au efecte similare cu cele produse de TPA, inclusiv creșterea turnoverului fosfolipidelor membranei. S-au obținut dovezi indirecte că aceste răspunsuri sînt mediate prin sistemul receptor Ah. Este foarte interesant faptul că hormonii glicocorticoizi, care sînt inhibitori puternici ai promovării tumorale în pielea de șoarece, sînt antagoniști potenți ai unor efecte legate de membrană, produse atât de TPA, cât și de benzpirenol (BP).

Se cunoaște de asemenea efectul TPA asupra celulelor induse de unele virusuri oncogene. S-a demonstrat că TPA intensifică transformarea celulelor induse de virusul polioma, Epstein-Barr, accelerează replicarea și efectul citopat al unor virusuri oncogene: adenovirusuri, E-B, virusul tumorii mamare de șoarece și unele retrovirusuri de tip C. (Fisher și colab., 1979; Weinstein și colab., 1982). Date mai recente (Leman și colab., 1983; Weinstein și colab., 1984) demonstrează că benzpirenol (BP) și metabolitul său mai reactiv (benzpirenol-dihidrodiol-9,10-epoxidul / BPDE) au efecte similare de inducere a

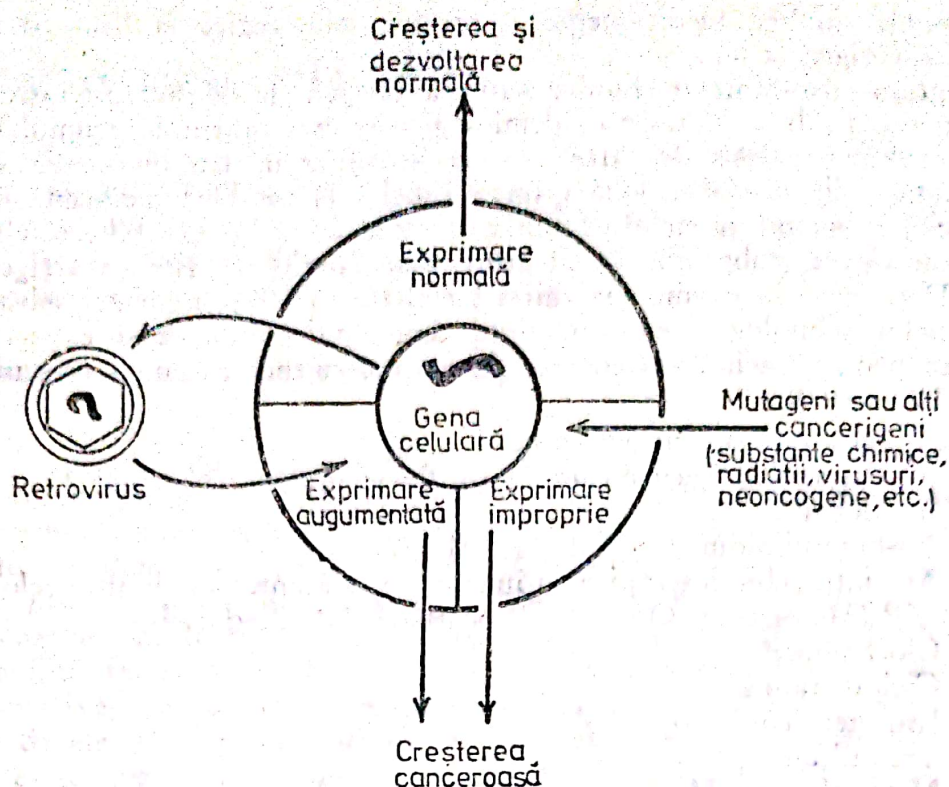


Fig. 9.16. — Schema unificată care ilustrează implicarea genelor în transformarea celulelor de către retrovirusuri, cancerigeni chimici și radiații (Weinstein, 1984).

replicării virusului polioma, chiar dacă au fost administrați o singură dată și în ciuda faptului că acești compuși sînt degradați rapid. Aceasta sugerează că acești cancerigeni chimici compleți pot induce unul sau mai mulți factori celulari care stimulează replicarea unor virusuri oncogene integrate în genomul celulei gazdă.

În plus, prin utilizarea unor tehnici noi de biologie moleculară (inginerie genetică), s-a constatat posibilitatea intervenției oncogenelor celulare, c-onc sau proto-onc, în mecanismul de inducere a transformării celulelor prin cancerigeni chimici (vezi addendum la Capitolul „Oncogeneza virală”). În acest fel, se pare că s-a făcut legătura dintre agenții cancerigeni de natură foarte diferită (chimici, radiații, virusuri) și s-au identificat unele mecanisme moleculare comune.

În fig. 9.16. se poate vedea cum cancerigenii chimici, radiațiile, produc alterări ale ADN celular la nivelul unor gene oncogene celulare, modificîndu-le fie cantitativ (creșterea exprimării acestora), fie calitativ (modificarea proteinei codificate de aceste gene). În plus, ele pot să acționeze la nivelul porțiunilor redundante (LTR) provirale sau a omologilor lor normali celulari, avînd drept consecință o alterare a exprimării genelor pe care le controlează (Kirschmeier și colab., 1982; Weinstein și colab., 1984).

Toate aceste cercetări privind mecanismele moleculare intime care stau la baza procesului multistadial al cancerogenezei chimice sînt încă la început, dar domeniul fiind extrem de interesant și de mare perspectivă, fără îndoială că cercetările ulterioare vor aduce mai multă lumină în acest domeniu.

După datele mai noi ale Agenției Internaționale de Cercetare a Cancerului — IARC — cu sediul la Lyon, din februarie 1982, s-au mai adăugat

noi compuși chimici, medicamente și procese tehnologice la lista compușilor cu risc cancerigen la om.

În grupa substanțelor chimice sigur cancerigene la om au fost introduși 11 compuși noi. Pe baza datelor epidemiologice și experimentale acumulate între 1979 și 1982, s-a decis de către comisia întrunită pentru revizuirea substanțelor chimice din celelalte două grupe (Tabel 9 I) ca două medicamente citostatice clorambucilul și ciclofosfamida, să treacă din grupa substanțelor probabil cancerigene (subgrupa A) în grupa substanțelor cu risc cancerigen sigur la om. Deci, până la ultima revizuire, efectuată în 1982, numărul substanțelor și proceselor tehnologice care prezintă date epidemiologice și experimentale suficiente pentru etichetarea lor ca sigur cancerigene la om, a crescut la 31 față de 18 în 1979.

Aceste substanțe sînt următoarele:

- Amestecuri analgezice care conțin fenacetină;
- Azatioprina
- 1,4-butandiol-dimetan-sulfonat (Mileran);
- Asociații chimioterapice utilizate în tratamentul limfoamelor, cum ar fi MOPP (Metotrexat, Oncovin, Procarbazina și Prednison);
- Clorambucil
- Ciclofosamidă
- Estrogeni conjugați
- Treosulfan
- Metoxalen combinat cu un tratament cu ultraviolete
- Unele anticoncepționale orale
- Industria coloranților
- Industria de piele și încălțăminte
- Fabricarea mobilei.

De asemenea, în grupa substanțelor chimice probabil cancerigene la om, subgrupa A, s-au adăugat patru medicamente citostatice și anume:

- Dacarbazina
- Procarbazina
- Bis-clormetilnitrozoureea (BCNU)
- 1-(2-cloretil)-3-ciclohexil-1-nitrozoureea (CCNU).

Otilia Bojan

Bibliografie

- CASTAGNA M., TAKAI U. și colab. — *J. biol. Chem.*, 1982, 257, 7 847—7 851.
- COOPER G. M. — *Science*, 1982, 218, 801—806.
- DELCLOS K. B., NAGLE D. J., BLUMBERG P. M. — *Cell*, 1982, 19, 1 025—1 032.
- FARBER E. — *Carcinogenesis*, 1984, 5, 1—5.
- FISHER P. B., BOZZONE J. H., WEINSTEIN I. B. — *Cell*, 1979, 18, 695—705.
- FISHER P. B., MUFSON R. A. și colab. — *Cancer Res.*, 1982, 42, 2 829—2 835.
- HAROWITZ A., FUJIKI H., WEINSTEIN I. B. și colab. — *Cancer Res.*, 1983, 43, 1 529—1 535.
- HICKS R. M. — *Carcinogenesis*, 1983, 4, 1 209—1 214.
- KIRSCHMEIER P., GATTONI-CELLI S., DINO D. and WEINSTEIN I. B. — *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)*, 1982, 79, 273—277.
- LAMBERT M. E., GATTONI-CELLI S., KIRSCHMEIER P., WEINSTEIN I. B. — *Carcinogenesis*, 1983, 4, 587—594.
- WEINSTEIN I. B. — *Carcinogenesis as a multistage process in Host Factors in Human Carcinogenesis*, International Agency for Research on Cancer, Lyon, 1982, p. 9—25.
- WEINSTEIN I. B., GATTONI-CELLI S., KIRSCHMEIER P., LAMBERT M. și colab. — *Molecular Mechanisms in Multistage Chemical Carcinogenesis*, Raven Press, New York, 1981, p. 193—212.

Oncogeneza virală

În ultimii 2 ani (1982—1983) s-a produs o adevărată „revoluție” în concepțiile privind mecanismele fundamentale ale oncogenezei, grație introducerii tehnicilor noi de „inginerie genetică”. Vom expune succint datele obținute recent prin aceste tehnici și impactul lor asupra înțelegerii procesului cancerizării în general și a celei virale în special.

Identificarea oncogenelor virale și a omologilor celulari normali ale acestora

Până în prezent au fost identificate 18 oncogene în virusurile oncogene cu ARN (retrovirusuri) (Tabel 10. VIII). Oncogenele (genele onc) au fost denumite prin 3 litere derivate din inițialele tumorii de origine virală din care au fost izolate. De exemplu, oncogena *ras* de la sarcomul de șobolan („*rat sarcoma*”), *abl* de la leucemia Ableson („*Ableson leukemia*”) etc. Unele oncogene sînt foarte asemănătoare și formează o familie. Asemănarea a fost stabilită fie prin metode de hibridizare a acizilor nucleici, din oncogenele respective, fie la nivelul produsului acestor gene, adică a proteinelor codificate de ele. Prin prima metodă au fost identificate 2 familii de oncogene: a) *fes* (oncogena virusului sarcomului felin) și *fps* (oncogena virusului sarcomului aviar Fujinami); b) oncogenele *src*, *yes* și *mos*, primele două de virusuri aviare, iar ultima a virusului sarcomului murin Moloney. A doua metodă stă la baza identificării unei familii formată din 5 membri: *ras-Ki 1*, *ras-Ki 2*, *ras-Ha 1*, *ras-Ha 2* și *bas* (vezi tabelul 10. VIII).

Ca și în cazul genei *src*, s-a constatat că oncogenele retrovirusurilor sînt foarte asemănătoare cu gene celulare normale. Acești omologi normali ai oncogenelor virale sînt notați *c-onc* sau, probabil mai corect, *proto-onc*, pentru a se deosebi de cele virale *v-onc* (de exemplu *c-mos* reprezintă omologul celular normal al genei virale *v-mos*). În ultimii ani s-au studiat intens celulele normale provenite de la diverse specii de animale, inclusiv umane, pentru a se vedea dacă conțin sau nu oncogene, precum și natura acestora. În acest scop au fost folosite „sonde radioactive”, adică copii ale oncogenelor virale marcate cu izotopi radioactivi (*c-ADN-P³²*). În cazul în care aceste copii de acizi nucleici hibridizează cu zone din ADN-ul celulelor normale, înseamnă că în genomul celulei există omologi ai oncogenelor virale (vezi Cap. Virusuri oncogene umane). S-a constatat că în toate celulele normale provenite de la toate vertebratele studiate pînă în prezent există omologi ai 16 din cele 18 oncogene retrovirale. În plus, s-a observat că celulele păsărilor conțin nu numai omologi ai oncogenelor retrovirusurilor aviare (*src*, *fps*, *yes*, *ros*, *myc*, *myb*, *erb A* și *B*, *mht* și *rel*), ci și ale retrovirusurilor mamiferelor (*abl*, *mos*, *fes*). Invers, genomul celulelor normale de mamifere conține omologi atît ai oncogenelor retrovirusurilor mamiferelor, cît și ale retrovirusurilor aviare. Aceste *c-onc* apar deci la toate speciile de vertebrate, fiind prezente chiar și la insecte *Drosophila* (*src*, *myc*, *abl*, *fes*).

Folosindu-se metode de inginerie genetică s-au putut stabili cromozomii la nivelul cărora sînt localizate fiecare dintre *c-onc*. Astfel, la om s-a văzut că oncogena *src* este localizată pe cromozomul 20, *c-myb* pe cromozomul 6, *c-myc* și *c-mos* pe cromozomul 8, *c-ras-Ha* pe 11, *c-ras-Ki* pe 12, *c-ras-N*

ONCOGENELE IDENTIFICATE ÎN RETROVIRUSURI
MODIFICAT DUPĂ VARNUS, 1982; DUESBERG, 1983; MEYER ȘI NICOLI, 1983)

Genă onc	Virusul în care s-a identificat	Produsul proteic	Tipul de cancer			Transformarea cel. în cultură	
			Sarcom	Carcinom	Leucemie ac.	Fibroblaste	Col. san-gvine
src* fps yes ros myc erb-A erb-B ets (?) myb rel nbl Blym (?)	<i>Virusurile păsărilor</i>						
	V. sarcomului Rous și alte	pp60src	+	-	-	+	?
	V. sarcomatoase		+	-	-	+	-
	V. sarc. Fujinami și alte V. sarco-matoase	p140Δgag-fps	+	-	-	+	-
	V. sarc. Yamaguchi (Y73) sarcomat.	p90Δgag-yes	+	-	-	+	-
	V. sarc. Rochester 2 (UR)	p68Δgag-ros	+	-	-	+	-
	V. mielocitomatozei aviare (MC29)	p110Δgag-myc	+	+	+	+	+
	V. eritroblastozei aviare	p75Δgag-erbA	+	+	+	+	+
	V. eritroblastozei aviare E26	p65Δgag-erbB	-	-	+	-	+
	V. mieloblastozei aviare	p135Δgag-myb-ets	-	-	+	-	+
	V. reticuloendoteliotei	p130Δgag-myb-Δenv	-	-	+	-	+
	V. carcinomului M112	? Δgag-nbl/myc	-	-	+	-	+
	V. limfomului B aviar	?	+	+	+	+	+
mos* ras-Ki* ras-Ha* bas* fos* abl fes fms sis	<i>Virusurile mamiferelor</i>						
	V. sarcomului murin Moloney	p31mos	+	-	-	+	-
	V. sarc. Kirsten la șobolan	p21ras	+	-	+	+	?
	V. sarc. Harvey la șobolan		+	-	+	+	?
	V. sarc. șoarecilor BALB/c	p21bas	+	-	+	+	?
	V. osteosarcomului murin FBJ	? p120Δgag-abl	+	-	-	+	+
	V. leucemiei murine Abelson	p85Δgag-fes	-	-	+	+	-
	V. sarc. felin ST și GA	p180Δgag-fms	+	+	-	+	-
	V. sarc. felin SM	p28Δenv-sis	+	-	-	+	-
	V. sarcomului Simian		+	-	-	+	-

* proteinele transformate sînt reprezentate de oncogenă nu de produsul de fuziune dintre gena virală parțial deletată (Δ) și oncogenă.

pe 1, c-abl pe 9, c-sis pe 22, c-erb pe 7, iar c-fes pe 15 (metoda Southern de analiză a benzilor de ADN realizate prin separare electroforetică a ADN-ului după „tăierea” lui cu endonucleaze de restricție).

Oncogenele celulare, omologi ai genelor responsabile de transformarea celulelor de către retrovirusurile oncogene ar reprezenta deci „inamicii din interiorul celulelor” (Bishop, 1981). Prezența c-onc în genomul celular normal a sugerat două ipoteze: (a) oncogenele virale provin din captarea accidentală a oncogenelor celulare și (b) activarea c-onc prin orice mijloc (iradiere, carcinogeni chimici, mutații) poate produce cancerizarea celulelor.

Relațiile dintre retrovirusuri și celulele gazdă

Între retrovirusurile oncogene (transformante) și celula gazdă putem deosebi două tipuri de interacțiuni (Cooper, 1982).

a) Una prin care genomul viral, prin integrarea lui în diferite regiuni ale ADN-ului cromozomilor, devine parte integrantă a genomului celulei. Atunci când integrarea se produce în celulele germinale, poate rezulta un provirus endogen;

b) A doua este reprezentată de procesul invers, prin care un virus defectiv, lipsit de oncogenă, captează din celula gazdă proto-oncogenă (c-onc) și devine astfel oncogen. După ce-și însușește această genă, virusul poate produce transformarea celulelor pe care le infectează. Retrovirusurile reprezintă, deci, elementul de *transducere* a genei transformante.

În genomul celulelor normale putem distinge două categorii distincte de elemente genetice neînrudite între ele, dar ambele înrudite cu genoamele retrovirusurilor: provirusurile endogene și oncogenele celulare. Deosebirile dintre aceste două tipuri de elemente genetice sînt numeroase (Varmus, 1982). Provirusurile endogene au mai multe trăsături caracteristice:

a. au intrat în general în genomul celulelor germinale în urma unei infecții orizontale ancestrale sau mai recente;

b. apar în zone diferite ale genomului celular, de regulă pe mai mulți cromozomi și conțin gene replicative pentru virus flancate de porțiuni terminale repetitive — LTR;

c. Se comportă ca orice marker genetic stabil, deci segregarea lor se conformează legilor genetice;

d. exprimarea provirusurilor endogene este dependentă atît de factori virali, cît și de cei celulari;

e. se pare că nu prezintă funcții esențiale pentru gazdă, deoarece a fost observată lipsa lor la unele animale;

f. deosebit de important este faptul că în marea lor majoritate provirusurile endogene sînt inofensive, ele sînt netumorigene și incapabile de replicare.

Oncogenele celulare au caractere diferite:

a. prezintă structura tipică a genelor celulare, adică sînt formate din porțiuni care codifică informația pentru sinteza proteică — denumite *exoni* — separate prin porțiuni de ADN care nu codifică această informație — numite *introni* (vezi Cap. Biochimia tumorilor, Fig. 1). Pentru exprimarea genei este necesară transcrierea informației pe un ARN mare, eterogen (transcript primar, ARN_{hn}) și, ulterior, prelucrarea acestui ARN. Prelucrarea implică excizia și îndepărtarea intronilor și legarea între ei a exonilor pentru

- a. forma ARN mesager, ce conține numai domeniile codante pentru proteină;
- b. sînt lipsite de porțiunile terminale redudante, repetitive — LTR;
- c. sînt gene de origine celulară și au o localizare precisă pe anumiți cromozomi. Pentru fiecare v-onc există o singură secvență celulară omoloagă, c-onc, din care se crede că derivă v-onc (Bishop, 1981);
- d. exprimarea c-onc se produce frecvent sub forma unui ARN-m poliadenilat, iar produsul este o proteină;
- e. prezintă un grad ridicat de conservare în evoluție, deoarece în celulele tuturor vertebratelor au fost decelate secvențe omoloage.

Conservarea c-onc sugerează că ele au un rol important în celulă. Această supoziție a fost confirmată în 1982—1983 de către Müller și Verma, care au constatat exprimarea marcată a genelor c-fos, c-ras și c-mos în cursul dezvoltării și diferențierii normale a embrionului de șoarece. De exemplu, c-fos (omologul celular al v-fos care provoacă osteosarcoame) este exprimată puternic în timpul dezvoltării oaselor. Chiar în viața adultă, în unele condiții poate să apară o reactivare a oncogenelor, de exemplu c-ras este exprimată în celulele ficatului în regenerare (Georgette și col., 1983).

În ultimii ani, cercetările s-au axat pe 2 direcții principale și anume: funcțiile proteinelor codificate de genele v-onc, care sînt responsabile de fapt de transformarea celulelor, deci „proteine transformante” și mecanismele prin care se realizează activarea oncogenelor celulare (c-onc).

Funcțiile proteinelor transformante

Pînă în prezent au fost identificate 3 tipuri de proteine transformante: tirozinkinaze, fosfoproteinkinaze și proteine care se leagă de ADN celular.

Proteinkinazele tirozinkinaze

Proteinkinazele tirozinkinaze sînt proteine cu activitate enzimatică de transferare a unui fosfat de la ATP (sau GTP) pe o proteină, fosforilînd astfel proteina, la nivelul aminoacidului tirozină. Fosforilarea tirozinei reprezintă o particularitate, deoarece celelalte proteinkinaze celulare cunoscute fosforilează proteinele fie la nivelul serinei, fie, mai rar, la nivelul treoninei sau histidinei. Importanța fosforilării proteinelor a fost descoperită abia în ultimul deceniu, cînd s-a văzut că ea este factorul esențial în stimularea activității celulelor de către factorii exteriori hormonal și nervoși.

În ultimii ani s-a constatat că diferitele funcții ale celulelor sînt sub controlul enzimelor care fosforilează și defosforilează proteinele, cu alte cuvinte ale proteinkinazelor, respectiv proteinfosfatazelor (Cohen, 1981).

Prototipul tirozinkinazelor codificate de v-onc este produsul genei src al virusului sarcomului Rous (RSV), pp 60 src. Aceasta fosforilează atît tirozina din propria sa moleculă proteică (autofosforilare), cît și din alte proteine. După autofosforilare pp 60 src se activează și declanșează o cascadă de alte proteinkinaze care, la rîndul lor, devin active doar atunci cînd tirozina din propria lor moleculă este fosforilată (Spector și col., 1981). În plus, pp 60 src fosforilează proteinele citoscheletului celulei, în special vinculina (proteină situată la nivelul plăcii de adeziune a celulelor) pe care,

astfel, o demonstrează (Hunter și col., 1980, Maness și Levy, 1983). Din acest motiv, celulele transformate își pierd aderența normală.

S-a constatat că și alte v-onc (aproximativ 10) codifică informația pentru tirozinkinaze. Printre acestea, produsele genelor v-abl (p 120), v-fes (p 85), v-yes (p90), v-fps (p140), dar și antigenele timpurii ale unor virusuri oncogene cu ADN ca: antigenul T al virusului SV₄₀, T mijlociu al virusului polyoma, precum și antigenul transformant al unui adenovirus.

Alte fosfoproteinkinaze.

Alte v-onc codifică informația tot pentru fosfoproteine, sînt situate tot pe membrana celulară, dar fosforilează și se autofosforilează la nivelul altor aminoacizi. De exemplu, proteina p21 codificată de v-ras-Ha și v-ras-Ki transferă fosfatul de GPT pe treonină, iar p37 produsul genei v-mos pe serină.

Proteine care se leagă de ADN al celulei.

Proteina p 110, produsul genei v-myc al virusului mielomonocitozei aviare MC 29, se localizează în nucleu și se leagă de ADN al celulei, declanșînd sinteza acestuia (ca și antigenul T al virusului SV₄₀).

Este interesant de semnalat faptul că o serie de factori normali de creștere a celulelor acționează tot prin intermediul unor tirozinkinaze: factorul de creștere al epidermului EGF („Epidermal Growth Factor“), factorul de creștere derivat din trombocite PDGF („Platelet Derived Growth Factor“), insulina. Există vreo legătură între produsul genelor v-onc și acești factori de creștere, care, se știe că stimulează mitozele, deci proliferarea celulelor, contribuind astfel la repararea și regenerarea țesuturilor? Se pare că da. Se știe că factorii de creștere se leagă de receptori specifici pentru fiecare dintre acești factori, prezenți la nivelul membranei celulare. Prin unirea factorului de creștere cu receptorul specific se formează un complex, factor de creștere-receptor, care are activitate enzimatică de tirozinkinază și care declanșează o serie de modificări biochimice ce culminează cu sinteza ADN și proliferarea celulei (Erikson și col., 1982; Cohen și col., 1983). În 1983 s-a constatat că proteina transformantă (p28SIS) produsă de gena V-sis (oncogena virusului sarcomului simian SiSV) este strîns înrudită structural și funcțional cu factorul de creștere derivat din trombocite (PDGF) (Doolittle și colab., 1983; Waterfield și colab., 1983; Robbins și colab., 1983). Ea are același efect mitogen proliferativ ca și PDGF asupra celulelor în cultură (Deuel și colab., 1983). Deci, retrovirusul SiSV și-a însușit din celulă gena unui factor normal de creștere, PDGF (de fapt doar o parte din această genă, adică una din cele 2 peptide ale PDGF). Celulele transformate de SiSV sintetizează proteina transformantă, adică factorul de creștere și totodată răspund la acest factor, avînd ca rezultat proliferarea lor continuă, necontrolată. Descoperirea acestei înrudiri între PDGF și produsul oncogenei v-sis a adus primul argument în favoarea teoriei „autocrine“ a lui Sporn și Todaro (1980) care susține că proliferarea independentă a celulelor transformate se realizează prin sinteza aberantă a unor factori de creștere și răspunsul celulelor la acești factori.

O a doua modalitate de subversiune a reglării normale a proliferării ar fi sinteza de tirozinkinaze, component al receptorului pentru alt factor de

creștere, EGF, ca în cazul oncogenelor: src, yes, fes, fps și abl. Legarea EGF de receptorul său duce la activarea enzimei care transmite, astfel, semnalul dat de factorul de creștere, promovînd proliferarea celulei și inhibînd diferențierea.

În 1984, colectivul lui Waterfield (Downward și colab.) a evidențiat faptul că o altă genă v-erb-B a virusului eritroblastozei aviare (AEV) este structural similară cu o parte din receptorul EGF uman. Proteina transformantă codificată de v-erb-B este lipsită de zona de legare a EGF, sugerînd că ea acționează aberant, inducînd proliferarea continuă a celulelor datorită faptului că este lipsită de controlul normal al EGF, pe care nu-l poate lega. Receptorul anormal transmite probabil tot timpul semnalul de proliferare, nu numai cînd îl primește de la EGF (Downward și col., 1984).

Oncogenele umane transformate

Existența oncogenelor a pus problema cancerizării (transformării) celulelor prin activarea c-onc. Același mecanism ar putea funcționa atît în cancerizarea virală, cît și în cea nevirală, de exemplu în cancerogeneza chimică. Dovezi indirecte în acest sens au fost obținute prin tehnicile de transfecție realizate recent. Prin *transfecție* se înțelege introducerea ADN străin într-o celulă în mod direct, fără intervenția unui vector viral. Între 1979 și 1981 Shih și colab., precum și Cooper și colab., au arătat că ADN provenit din celulele tumorilor induse chimic (de șoareci) provoacă apariția unor focare de transformare a celulelor normale prin transfecție *in vitro*. Celulele normale utilizate au fost linia de fibroblaste 3T3 provenită de la șoarecii NIH. Aceste focare de celule transformate induc dezvoltarea unor tumori dacă sînt injectate la șoarecii nuzi. Fenomenul nu este un artefact de cultură, deoarece ADN izolat din celulele transformate *in vitro* are activitate transformantă crescută la o nouă transfecție a celulelor 3T3 (transfecție secundară și terțiară). Întrucît doar o mică parte din ADN utilizat are efecte transformante și dat fiind faptul că celulele erau lipsite de virusuri oncogene, s-a suspectat implicarea c-onc în transformarea prin transfecție. Această ipoteză a fost confirmată recent de Eva și Aaronson (1983), care au demonstrat activarea c-ras-Ki (omologul celular al oncogenei sarcomului murin Kirsten) în fibrosarcomul indus prin metilcolantren la șoareci. Din acest motiv, procedeul a fost utilizat în ultimii ani pentru identificarea oncogenelor din cancerele spontane umane.

Colectivele conduse de Weinberg, Cooper și Barbacid au folosit, în transfecția celulelor 3T3, ADN izolat inițial din linii de celule canceroase stabilizate (crescute *in vitro*) și ulterior din celulele tumorale ale bolnavilor. Utilizîndu-se acest procedeu, s-a constatat că ADN provenit dintr-o serie de cancere induce transformarea: cancere de vezică urinară (inițial linia T24 și EJ, ulterior celule tumorale), pulmonare, de colon, pancreas, veziculă biliară, sîn, leucemii mieloide și limfatice, limfoame cu celule T și B, unele sarcoame. Aproximativ 30% din cancerele testate au prezentat activitate transformantă la transfecție: 27% în cazul carcinoamelor (13 din 49), 50% în leucemii și limfoame (9 din 18) și 21% în alte forme (4 din 19 tipuri de cancere: melanom, osteosarcom, fibrosarcom, rabdomiosarcom, neuroblastom, glioblastom, astrocitom).

Pentru identificarea genelor transformante s-a recurs la tehnici de biologie moleculară cunoscute sub denumirea largă de inginerie genetică. ADN uman prezintă anumiți markeri genetici specifici prin care poate fi recunoscut. Pentru identificarea lui s-a izolat ADN din celulele 3T3, transformate în urma transfecțiilor secundare sau terțiare, s-a fragmentat (cu endonucleaze de restricție) și s-a cartografiat (fragmentele au fost separate electroforetic). Fragmentele de origine umană hibridizează cu ADN uman și se pot evidenția prin autoradiografiere. S-a văzut că în celulele transformate în urma transfecției secundare și terțiare persistă doar o cantitate mică din ADN-ul uman inițial, de obicei doar o singură genă. Identitatea acestei gene a fost testată folosindu-se copii radioactive (sonde radioactive) ale oncogenelor virale cunoscute (analiza Southern a benzilor radioactive).

Prima oncogenă umană astfel identificată a fost cea a cancerelor de vezică urinară (linia T24). S-a constatat că gena transformată este reprezentată de omologul celular al genei v-ras-Ha (gena sarcomului Harvey de șobolan) (Der și colab., 1982; Parada și colab., 1982; Santos și colab., 1982). În altă tumoare vezicală oncogenă este omologul celei din virusul sarcomului murin Kirsten, ras-Ki. Se pare că toate genele transformante umane, identificate pînă în prezent în tumori solide, aparțin familiei genelor ras: în liniile celulare de cancer pulmonar ras-Ha și ras-Ki, în liniile de neuroblastom și în cîte o linie de fibrosarcom, cancer de colon, limfom Burkitt, precum și în celulele canceroase ale unui bolnav cu leucemie mieloidă o genă înrudită denumită ras-N (Murray și colab., 1983).

Identificarea oncogenelor umane prezintă o importanță deosebită. Pentru prima oară s-a demonstrat că și în cancerele umane apar fenomene similare celor evidențiate în cancerogeneza experimentală și că există gene care pot să inducă transformarea celulelor normale. Interesul extraordinar stîrnit de aceste cercetări este demonstrat de un fapt fără precedent: celebra revistă Nature în 1982 a apelat la cititorii ei pentru a fi anunțată prin orice mijloace (în scris sau telefonic) asupra oricăror articole noi apărute în acest domeniu, pentru a putea fi referate la rubrica de noutăți „News and Views“.

Faptul că în unele cancere umane nu au fost găsite oncogene analoage v-onc cunoscute, s-ar putea datora fie capacității celulelor de soarece 3T3 de a decela numai o parte din oncogenele umane, fie implicării unor gene al căror corespondent viral încă nu a fost identificat.

În ultimul an s-a încercat să se caracterizeze secvența nucleotidelor ADN din genele transformante umane: ras-Ha, ras-Ki și ras-N (din liniile celulare de carcinoame vezicale, respectiv pulmonare și neuroblastom). S-a constatat că toate trei genele transformante diferă de omologii lor normali netransformați prin mutații punctiforme, adică modificări la nivelul unei singure perechi de baze. Aceste mutații determină modificarea unui singur aminoacid din proteinele codificate de aceste gene. Toate genele ras conțin informația pentru proteine similare notate p 21. În cazul genei transformante ras-Ha în locul glicocolului în poziția 12 apare yalina, iar în cazul ras-Ki în aceeași poziție apare cisteina. Uneori pe lîngă această mutație apare o a doua mutație punctiformă la nivelul ras-Ha și ras-N, ducînd la substituirea aminoacidului din poziția 61 (normal glutamina). Astfel de mutații punctiforme au fost evidențiate ulterior în peste 50 de tumori primare (izolate de la bolnavi). Deoarece mutația nu afectează cantitatea de proteină transformantă sintetizată de celulele canceroase, se pare că alterarea calitativă a

proteinei codificată de gena mutantă este responsabilă de transformarea celulelor. Fenomenul nu ar fi unic, dacă ne reamintim faptul că modificarea unui singur aminoacid din lanțul beta al moleculei de hemoglobină este responsabilă de apariția anemiei drepanocitare (siclemie): înlocuirea acidului glutamic din poziția 6 cu valina.

Spre deosebire de cancerle solide în care oncogenele decelate pînă în prezent prin transfecție sînt asemănătoare între ele și aparțin aceleiași familii (*ras*), în leucemii și limfoame au fost identificate oncogene diferite. Ele variază în funcție de stadiul maturării celulelor (diferențierii), atît pe linia B, cît și T. Prin studierea liniilor stabilizate de celule leucemice umane, s-a constatat creșterea exprimării unor *c-onc*, evidențiată prin cantitatea de ARN-mesager transcris de pe aceste gene. Activarea *c-myc* apare în liniile de mieloblaste (KG-1), promielocite (HL-60) și eritroblaste (K562). În primele 2 linii a fost evidențiată și o transcriere de 16—32 de ori mai mare a genei *c-myc*, precum și a *c-fes* (Westin și colab., 1982; Slamon și colab., 1983). Inducerea diferențierii celulelor, prin reversori, determină o scădere a activității acestor gene (Koeffler, 1983). Amplificarea exprimării *c-myc* și *c-mos* apare și în limfomul Burkitt și plasmocitomul murin, *c-abl* în leucemia mieloidă umană, iar *c-myc* și în unele leucemii limfatice acute umane. În cele mai multe cazuri creșterea exprimării oncogenelor apare ca urmare a unei translocații cromozomiale.

Mecanismele prin care se produce activarea oncogenelor

S-a constatat că activarea oncogenelor celulare se poate realiza prin 6 modalități: inserția lor în genomul retrovirusurilor, inserția retrovirusurilor în genomul celular adiacent *c-onc*, atașarea unui LTR viral la *c-onc*, amplificarea oncogenei, mutația punctiformă a *c-onc* și translocația spontană pe alt cromozom (Temin, 1983).

Inserția c-onc în genomul retrovirusurilor

Retrovirusurile pot să acapareze genele *c-onc* din genomul celulei și să și le introducă în propriul lor genom, cu toate că aceste gene nu au nici o importanță pentru ciclul vital al virusului. Virusul hibrid astfel rezultat va provoca transformarea celulelor pe care le infectează — celulele vecine sau ale altui animal. Întregul fenomen este numit *transducere*, agentul de transducere fiind virusul care duce oncogenă în altă celulă. Posibilitatea existenței reale a acestui mecanism a fost demonstrată inițial de Hanafusa și col. (1977—1980) pentru gena *src* și confirmată ulterior de alți autori. Tulpinile neoncogene ale virusului sarcomului Rous, datorită depleției genei *v-src*, devin din nou capabile să producă tumori după injectarea lor la păsări (găini sau alte păsări; ex. prepeliță). Virusul redevine oncogen (deși peste 75% din *v-src* îi lipsea) datorită achiziționării genei *c-src* (*src*) din celulă, reconstituind astfel prin recombinare *v-src*.

Foarte recent s-a evidențiat transducerea genei *c-myc* de către virusul leucemiei feline (FeLV), agentul natural al leucemiilor pisicilor și care se știa că este lipsit de oncogenă (Neil și colab., 1984; Levy și colab., 1984; Mullins și colab., 1984).

Fenomenul de transducere se petrece în mai multe etape prin mecanisme incomplet elucidate. În genomul virusului oncogenă apare sub forma ei „prescurtată”, adică lipsită de introni, similară cu cea pe care o are în ARN mesager (Fig. 10.24). În plus, pe ambele părți ea este încadrată de porțiuni de genom viral, deci în achiziționarea oncogenei trebuie să existe cel puțin 2 recombinări.

Teoretic, în genomul retrovirusurilor poate fi introdusă prin recombinare orice genă celulară. Captarea unei gene care promovează multiplicarea celulelor ar avea ca efect formarea tumorilor. Din acest motiv, numărul potențial de c-onc, deși este încă necunoscut, pare a fi restrâns doar la sub 30, adică numărul genelor implicate în proliferarea celulelor.

În cursul procesului multistadial de captare a c-onc de către retrovirusuri se produc modificări atât ale genelor virale, cât și ale genei celulare. Din acest motiv, probabil, marea majoritate a proteinelor transformante codificate de oncogenele virale sînt reprezentate de produsul fuziunii dintre gena onc și o genă virală parțial deletată (deleția este indicată de litera Δ delta). De obicei, gena virală deletată este gag (Δ gag-ras, Δ — gag-fes etc.), mai rar env (Δ env-sis) sau ambele (Δ gag-myb- Δ env) (Tabel 10. VIII). În plus și gena celulară poate suferi modificări, deleții, mutații punctiforme, care afectează fie funcția, fie specificitatea de substrat a proteinei pe care o codifică.

Mecanismul prin care se produce cancerizarea este incomplet elucidat. În prezent există două ipoteze, care traduc de fapt vechea controversă dintre teoria lui Huebner și Todaro a oncogenei și cea a protovirusului a lui Temin: modelul cantitativ și cel calitativ.

a) *Modelul cantitativ*: susține că v-onc și c-onc sînt similare, iar transformarea celulelor se datorează producerii excesive a proteinei codificată de aceste gene. Deci, celulele normale sînt privite ca celule potențial canceroase, în care însă oncogenele nu sînt exprimate sau sînt exprimate la nivel foarte scăzut (Bishop, 1981; Varmus, 1982; Cooper, 1982). De exemplu, în celulele normale de păsări sînt transcrise 2—10 copii pe ARNm a genei myc, în timp ce în cele transformate (limfom) 100—200 copii (Hayward și colab., 1981).

b) *Modelul calitativ* susține că există diferențe între v-onc și c-onc, ultimele fiind doar precursori ai oncogenelor, deci proto-onc. Pentru a deveni transformantă, proto-onc trebuie să sufere modificări: deleții, mutații punctiforme sau recombinări cu alte elemente genetice celulare sau virale (Duesberg, 1983; Temin, 1983).

Cele două modele nu se exclud reciproc, deoarece pot să existe sau să coexiste mai multe mecanisme, care în final să ducă la aceeași formă de cancer.

Insertia unui retrovirus adiacent față de o protooncogenă

Creșterea exprimării genei c-myc de la 10—20 copii pe celulă la 100—200 copii a fost constatată la gășile care prezentau limfom cu limfocite B. Limfomul apare după injectarea păsărilor cu virusul leucemiei aviare, lipsit de gene onc, după o perioadă lungă de latență (peste 6 luni). Cu ajutorul sondelor radioactive s-a constatat că în 80% din cazuri virusul leucemiei este integrat în vecinătatea protooncogenei celulare myc (Hayward și colab., 1981).

În plus, dacă integrarea aceluiași virus se produce în vecinătatea altei gene, c-erb, apare o exprimare crescută a acestei gene și o altă boală, eritroblastoză aviară. Se consideră că activarea genei se produce prin trecerea ei de sub controlul promotorului celular normal sub controlul promotorului viral. *Promotorul* este un semnal, codificat în ADN, care reglează exprimarea genelor învecinate. În cazul retrovirusurilor, funcția de promotor este deținută de porțiunea redundantă din genomul viral, adică LTR (fig. 10.24). Activarea expri-

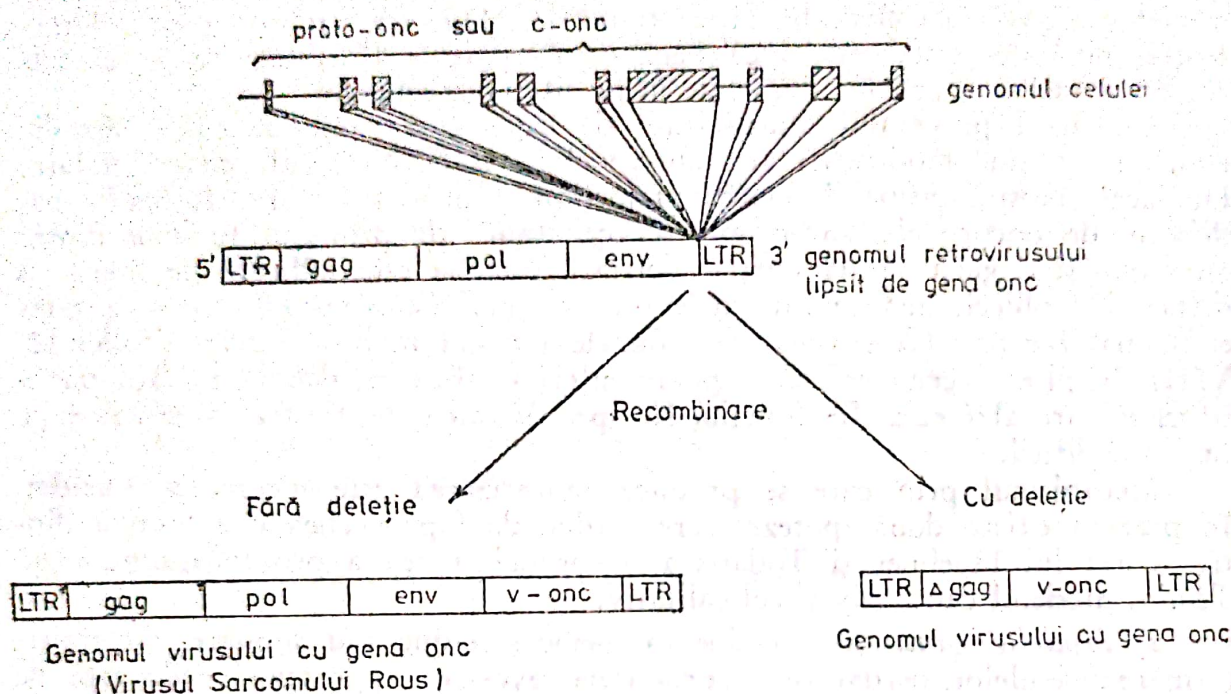


Fig. 10.24. — Captarea genei onc de către retrovirusuri (modificat după Duesberg, 1982 și Bishop, 1982). Gena celulară, c-onc sau proto-onc, este formată din exoni (hașurați) separați de introni (linie). Ea este achiziționată de retrovirus și inclusă în genom după ce intronii au fost eliminați. Rezultatul recombinărilor este un virus hibrid care posedă oncogena, v-onc, pe lângă genele proprii așa cum apare în virusul sarcomului Rous (RSV). Mai frecvent în cursul recombinărilor se produce deleția genelor virale. Deleția poate fi totală (dispare gena pol, env) sau numai parțială (Δ gag).

mării c-onc se poate realiza prin inserția promotorului viral în genomul celulei înaintea oncogenei (activare „aval”), în sensul de transcriere a ADN (cis). În mod surprinzător, s-a constatat că activarea se poate produce și dacă promotorul viral este integrat după c-onc (activare „amonte”) sau chiar în trans față de c-onc. În ultima situație se presupune că promotorul viral acționează indirect prin demolarea elementelor celulare normale de control (Varmus, 1982; Payne și colab., 1982).

Activarea oncogenelor *in vitro* prin legarea c-onc de promotori virali (LTR)

Experiențele realizate de cercetătorii din 2 laboratoare conduse de Vande Woude și de Scolnick aduc noi dovezi în favoarea activării oncogenelor celulare de către promotorii virali. Autorii au legat *in vitro* protooncogene, c-mos (de șoarece) sau c-ras-Ha (uman sau de șoarece), de LTR izolat de la retrovirusuri. Moleculele de ADN hibride astfel formate produc trans-

formarea celulelor normale de șoarece (fibroblaste 3T3). Genele c-mos și c-ras-Ha lipsite de LTR nu transformă celulele 3T3, deci LTR acționând ca promotori eficienți cresc exprimarea c-onc, provocând astfel transformarea. Prin legarea LTR de alte gene structurale au fost obținute creșteri marcate ale sintezelor proteinelor codificate de aceste gene, sinteze care s-au dovedit a fi sub controlul LTR.

Pe lângă activitatea de promotor pe care o prezintă, LTR se pare că este implicat și în integrarea virusului în ADN al celulelor și în transpoziția genelor, pe care le flanchează, de pe un cromozom pe altul. Această activitate este sugerată de asemănările structurale pe care le prezintă, cu elementele genetice mobile (segmente de inserție IS, transposoni, gene saltante) (Temin, 1983).

Modificarea spontană a oncogenei printr-o mutație punctiformă

Așa cum am arătat anterior, analiza ADN dintr-o linie celulară de cancer spontan de vezică urinară umană (linia T24), prin transfecție, a arătat că transformarea celulelor 3T3 este produsă de o oncogenă c-ras-Ha, care a suferit, însă, o mutație punctiformă la nivelul unei singure perechi de baze din ADN. Mutația provoacă înlocuirea unui singur aminoacid în proteina p21 codificată de această genă: în locul glicocolului din poziția 12 apare valina (Tabin și colab., 1982; Reddy și colab., 1982; Der și colab., 1982). Mutația nu afectează cantitatea de proteină sintetizată, dar poate schimba structura spațială (terțiară) și/sau activitatea funcțională a acestei proteine. Se pare că p21, care are activitate de proteinkinază, este structural similară cu subunitatea beta a ATP-azei mitocondriale (Gay și colab., 1983). În acest caz, transformarea celulelor este generată de modificări calitative, nu cantitative, ale c-onc. Mutații punctiforme ale genelor ras-Ha, ras-Ki și/sau ras-N au fost evidențiate în peste 50 tipuri de tumori umane primare.

Amplificarea c-onc

Exprimarea crescută a genei c-myc a fost constatată în cazul liniei celulare HL-60 provenită dintr-o leucemie umană acută promielocitară. Această creștere se datorează existenței unor copii multiple de c-myc în genomul celulei. Copiile sînt rezultatul numeroaselor duplicări ale genei, adică *amplificării* genei. Deoarece același fenomen a fost regăsit în celulele blastice recoltate de la bolnav, amplificarea c-myc nu este un artefact de cultură (Collins și Groudine, 1982).

Amplificarea c-myc a fost observată și într-o linie celulară umană de cancer de colon, a genei c-ras într-o linie tumorală de suprarenală de șoarece, iar c-abl în linia de celule leucemice umane K-562. Între amplificarea c-onc și carcinogeneza se pare însă că nu există corelații (Duesberg, 1983).

Translocția oncogenei

Alt mecanism prin care s-ar putea realiza activarea oncogenelor ar fi mutarea lor în altă regiune a genomului celulei, adică translocția genei. Prin translocție, oncogena poate fi exprimată în exces, datorită legării ei de un promotor celular mai activ. Totodată, în procesul de translocție pot să

apară modificări calitative ale genei, cu producerea de proteine noi, adică proteine transformante. Ambele tipuri de modificări au fost observate în delețiile și translocațiile clasice, descrise de mult de geneticieni. Vom da câteva exemple.

a) Una dintre cele mai cunoscute translocații este cromozomul Philadelphia, prezent la 90% din bolnavii cu leucemie mieloidă cronică, care constă din deleția cromozomului 22 și translocația porțiunii deletate pe cromozomul 9 sau, mai rar, pe alți cromozomi (12, 17 sau 19). De fapt, se produce o dublă translocare, pe lângă $22 \rightarrow 9$ și una $9 \rightarrow 22$. Ultima determină mutarea genei *c-abl* de pe cromozomul 9 (banda 34 de pe brațul lung q) pe cromozomul 22, în vecinătatea regiunii care codifică informația pentru lanțurile ușoare λ ale imunoglobulinelor (q 11). Gena intră astfel sub controlul puternicului promotor al imunoglobulinelor, iar exprimarea ei devine augmentată (Klein și colab., 1982). Translocația inversă $22 \rightarrow 9$ implică probabil gena *c-sis* situată pe cromozomul 22.

b) În limfomul Burkitt sînt interesate 2 gene *c-mos* și *c-myc*. Gena *c-mos* este activată datorită intercalării unui nou segment de ADN, cu structură similară unui element genetic mobil IS (segment de inserție), imediat înaintea genei. Noul segment determină creșterea exprimării *c-mos*, normal inactivă (Rechavi și colab., 1982). În alte linii de limfom Burkitt (african și neafrican), precum și în unele leucemii limfatice acute, apare o activare a *c-myc* în urma unor translocații ale genei: $8 \rightarrow 14$; $8 \rightarrow 2$ sau $8 \rightarrow 22$. Gena prezintă în mod normal pe cromozomul 8 (banda q 24) este transferată adiacent unui locus care codifică imunoglobulinele: pe cromozomul 14 locusul lanțurilor grele (q 32) sau pe cromozomul 2 cel al lanțurilor ușoare K (p 12), respectiv pe cromozomul 22 al lanțurilor ușoare λ (q 11) (Della-Favera și colab., 1982; Taub și colab., 1982). Translocarea determină creșterea exprimării *c-myc* (Marcu și colab., 1983). Activarea *c-myc* apare și în leucemia promielocitară acută, iar în urma translocării, în plasmocitomul murin. Gena localizată în mod normal pe cromozomul 15, la aceste animale, este transferată la nivelul locusurilor ce codifică imunoglobulinele: lanțurile ușoare sau grele (la șoareci cromozomul 6 respectiv 12).

c) Deleția genei *c-ras-Ha* situată pe cromozomul 11 (brațul scurt p banda 13) s-a constatat în celulele tumorii Wilms, fiind absentă în celulele normale ale aceluiași bolnav. Este interesant de amintit că aceeași deleție apare și într-o anomalie congenitală (aniridie) caracterizată prin risc crescut la tumoarea Wilms.

În unele cazuri, translocațiile oncogenelor determină creșterea exprimării produsului acestor gene. Alteori, proteinele codificate de *c-onc* devin transformante datorită modificărilor calitative suferite în urma translocației sau deleției și fuziunii cu alte gene. În acest sens, modelul mielomului spontan de șobolan pare a fi relevant. Anomalia este caracterizată prin deleția parțială a genei *c-mos* (513 perechi de baze) concomitent cu înlocuirea unei porțiuni deletate cu un nou ADN celular (159 perechi de baze), care are structura unui segment de inserție (element mobil al genomului). Aceste modificări genetice se traduc prin creșterea exprimării *c-mos*, dar sub o formă alterată, care este capabilă să transforme celulele 3T3 prin transfecție, spre deosebire de gena normală *c-mos*, care nu poate transforma aceleași celule; un fenomen similar ar putea fi în tumoarea Wilms.

Toate aceste date recente aprofundează înțelegerea nu numai a oncogenezei virale, ci și a oncogenezei în general. În plus, ele întăresc concepția privind mecanismul multistadial al apariției cancerului. Absența oricăruia din aceste stadii duce la absența tumorii maligne. De exemplu, în apariția limfomului Burkitt intervin cel puțin 3 etape necesare: prima — infecția cu virusul Epstein-Barr, a doua implică gena ras-N (gena transformantă la transfecția celulelor 3T3) și a treia translocția genei c-myc de pe cromozomul 8 pe cromozomii 4, 2 sau 22.

Monica Crișan

Bibliografie

- AARONSON S. T. — *Cancer Res.*, 1983, 43, 1—5.
 BISHOP J. M. — *Cell*, 1981, 23, 5—6.
 BISHOP J. M. — *Sci. Amer.*, 1982, 246, 68—78.
 BISTER K., DUESBERG P. H. — Genetic structure and transforming genes of avian retroviruses, in „Advances in viral oncology”, vol. 1 (sub red. Klein G.), Raven Press, New York, 1982, p. 3—42.
 BLAIR D. G., OSKARSSON M., WOOD T. G. și colab. — *Science*, 1981, 212, 941—943.
 CAIRNS J. — The origin of human cancers, *Nature (Lond.)*, 1981, 289, p. 853—857.
 COHEN P. — *Nature (Lond.)*, 1982, 296, 613—620.
 COOPER G. M. — *Science*, 1982, 218, 801—806.
 COFFIN J. M., VARMUS H. E., BISHOP J. M. și colab. — *J. Virol.*, 1981, 40, 953—957.
 DALLA-FAVERA R., WONG-STAAI F., GALLO R. — *Nature (Lond.)*, 1982, 299, 61—63.
 DOWNWARD I., YARDEN Y., MAYES E. și colab. — *Nature (Lond.)*, 1984, 307, 521—527.
 DUESBERG P. H. — *Nature (Lond.)*, 1983, 304, 219—225.
 DUESBERG P. H., NUNN M., BIEHL T. și colab. — Viral oncogenes and cellular prototypes, in „Modern Trends in Human Leukemia”, vol. 5 (sub red. Neth, Gallo, Greaves, Moore, Winkler), Springer Verlag, Berlin-Heidelberg, 1983, p. 163—172.
 DUESBERG P., ROBINS T., LEE W.-H. și colab. — Transforming genes of avian retroviruses and their relation to cellular prototypes, in „Biochemical and Biological Markers of Neoplastic Transformation” (sub red. Chandru P.), Plenum Press Inc., New York, 1983, p. 409—431.
 HAYWARD W. S., NEEL G. B., ASTRIN S. M. — *Nature (Lond.)*, 1981, 290, 475—480.
 KAHN A., TUY P. D. — *Presse med.*, 1983, 12, 2 101—2105.
 KLEIN G. — *Nature (Lond.)*, 1981, 294, 313—318.
 KOEFFLER H. P. — *Blood*, 1983, 62, 709—721.
 LANE M. A., SAINTEN A., COOPER G. M. — *Cell*, 1982, 28, 873—880.
 MARCU K. B., HARRIS L. J., STANTON L. W. și colab. — *Proc. natl. Acad. Sci. (Wash.)*, 1983, 80, 1 073—1 077.
 MEYER G., NICOLI J. — *Bull. Cancer*, 1983, 70, 151—159.
 MICHELL B. — *Nature (Lond.)*, 1984, 308, 770.
 MÜLLER R., HARMON D. J., TREMBLAY J. M. și colab. — *Nature (Lond.)*, 1982, 299, 640—644.
 NEWMARK P. — *Nature (Lond.)*, 1984, 307, 499.
 PULCIANI S., SANTOS E., LAUVER A. V. și colab. — *Nature (Lond.)*, 1982, 300, 539—542.
 RECHAVI G., GIVOL D., CANAANI E. — *Nature (Lond.)*, 1982, 300, 607—611.
 REDDY E. P., REYNOLDS R. K., SANTOS E., BARBACID M. — *Nature (Lond.)*, 1982, 300, 149—152.
 SPORN M. B., TODARO G. J. — *New Engl. J. Med.*, 1980, 303, 878—880.
 TABIN C. J., BRANDLEY S. M., BARGMANN C. I. și colab. — *Nature (Lond.)*, 1982, 300, 143—149.
 TEMIN H. M. — *Cell*, 1982, 29, 3—5.
 TEMIN H. M., CHEN I. S. Y., WATANABE S., WILHELMSEN K. — Evolution of retroviruses, in „Perspectives on Genes and the Molecular Biology of Cancer” (sub red. Robberson D. L. și G. F.), W. B. Saunders — Raven Press, New York, 1983, p. 243—253.
 TEMIN H. M. — *Nature (Lond.)*, 1983, 302, 656.
 VARMUS H. E. — *Science*, 1982, 216, 812—820.
 WEINBERG R. — *Biochim. Biophys. Acta (Amst.)*, 1982, 651, 25—35.

Virusurile oncogene umane

După ce a fost scris capitolul, au apărut date noi care prezintă un interes deosebit și care merită să fie menționate: izolarea primului oncornavirus cu certitudine uman, HTLV ("Human T Leukemia-lymphoma Virus"), virusul leucemiei și limfomului T uman, confirmarea mecanismului multistadial al inducerii limfomului Burkitt de către virusul Epstein-Barr, etiologia virală a AIDS și implicarea virusurilor polioma în unele tumori maligne umane. Le vom expune succint, în ordinea în care apar în Capitolul 11.

Virusul Epstein-Barr (EBV)

Cercetările recente demonstrează că în limfomul Burkitt (LB) malignizarea celulelor este rezultatul unui proces multistadial în care trebuie să survină cel puțin 3 evenimente oncogene: infecția cu EBV, translocarea unei oncogene și intervenția celei de a doua oncogene (vezi addendum la Cap. 10).

(a) Infecția cu EBV duce la proliferarea limfocitelor B printr-un mecanism similar cu cel descris inițial pentru antigenul T al virusului SV-40. Antigenul T (ca și EBNA) se leagă de o proteină celulară normală, cunoscută sub prescurtarea 53K (greutatea moleculară de 53 Kilodaltoni), cu care formează un complex stabil SV₄₀-T-53K. Această proteină se pare că este implicată în procesul normal de proliferare a celulelor. Celulele netransformate, în repaus, conțin cantități reduse de 53K, datorită faptului că proteina este degradată foarte rapid. În celulele transformate cantitatea de 53K este mult crescută, deoarece antigenul T îi împiedică degradarea normală prin formarea complexului și/sau prin fosforilarea moleculei proteice (se știe că antigenul T are activitate proteinkinazică). Creșterea cantității de 53K este însoțită de inițierea sintezei de ADN celular și are drept consecință proliferarea celulară. Se pare că un mecanism similar operează și în celulele infectate cu EBV (Klein, 1981; Milner și Milner, 1981; Weiss, 1982);

(b) Proliferarea limfocitelor B nu este suficientă pentru a da LB. Trebuie să intervină translocția unei oncogene, c-myc, de pe cromozomul 8 pe cromozomul 14 (90% din cazuri), mai rar pe cromozomul 2 sau 22 (10% din cazuri). S-a constatat că, în urma acestor translocții, oncogenă este introdusă în loci care codifică informația pentru sinteza imunoglobulinelor (cromozomul 14 lanțul greu, cromozomul 2 lanțul ușor kappa, cromozomul 22 lanțul ușor lambda).

Gena c-myc scapă astfel de sub controlul reglator celular normal și intră sub influența altui promotor, foarte activ, cel al imunoglobulinelor, ceea ce face să crească exprimarea informației cuprinsă în această genă (Della-Favera și colab., 1982; Taub și colab., 1982; Marcu și colab., 1983). În plus, în cursul acestei translocări se pot produce mutații, care alterează proprietățile și funcția proteinei codificate de c-myc (Duesberg, 1983).

(c) Prin tehnici de transfecție s-a constatat că în limfomul Burkitt gena transformantă este c-ras-N, ceea ce sugerează că și această genă este implicată în procesul de malignizare (Murray și colab., 1983). Nu este exclusă, la unele cazuri, intervenția genei c-mos (Rechavi și colab., 1982).

Pentru ca să apară cancerul, este necesar ca în cursul proliferării și blocării diferențierii limfocitelor B, induse de EBV, să se producă o rearanjare

genetică ca urmare a stimulării antigenice cronice a acestor celule imature. Rearanjarea genetică poate duce la creșterea și/sau modificarea informației cuprinsă în oncogenele celulare, care, uneori, poate determina malignizarea celulelor.

Originea virală a AIDS

În ultimii ani EBV și/sau CMV au fost incriminate în inducerea unor limfoame maligne limfocitare B sau imunoblastice la bolnavii imunosupresați după transplante de organe (Hanto și colab., 1982), precum și în sarcomul Kaposi din sindromul de imunodeficiență câștigată (AIDS) ("Acquired Immuno Deficiency Syndrome"). Această boală nouă, AIDS, a fost identificată în 1981 în SUA, fiind caracterizată prin: sarcom Kaposi și/sau infecții oportuniste survenite la persoane sub 60 ani, anterior sănătoase, care prezintă o imunodepresie pronunțată. Evoluția este foarte gravă, de obicei fatală, mortalitatea este de peste 70% (90—100%) în decurs de 2 ani. În general, debutează cu febră, stare generală alterată, scădere în greutate, anorexie, diaree, adenopatie, care evoluează în boala propriu-zisă: sarcom Kaposi (uneori limfoame B cu malignitate ridicată), acompaniat sau nu de infecții oportuniste, adică cu agenți patogeni doar la persoanele cu depresie imunologică (Pneumocystis carinii, Toxoplasma gondii, unele fungii etc.) (Gottlieb și colab., 1981—1983; Durak, 1981; Curran, 1983; Kahn și colab., 1983; Francioli, 1983). Imunodeficiența celulară se manifestă prin: anergie la testele cutanate, scăderea numărului de limfocite T, a răspunsului lor la mitogeni și antigene, inversarea raportului dintre limfocitele T helper și supresoare (T_H/T_S) datorită diminuării proporției limfocitelor T_H , scăderea producerii de interleukină 2 (IL-2) și a receptorilor pentru această limfokină, creșterea nivelurilor imunoglobulinelor și apariția în ser a unui tip particular de interferon alfa (labil la acizi) (Schroff și colab., 1983; Daul și Shazo, 1983; De Stefano și colab., 1982).

Boala survine de obicei la homosexualii cu parteneri multipli (80% din cazuri), dar a fost semnalată și la persoanele care abuzează de medicamente i.v., la hemofilicii tratați cu factorul VIII liofilizat și la bolnavii care au primit produse sangvine sau transfuzii multiple (persoane cu risc pentru AIDS). În decurs de 2 ani au fost diagnosticate în SUA aproximativ 2300 cazuri (2008 la homosexuali). Recent, sindromul a fost observat la populația emigrată din Haiti și la descendenții ei, precum și la unii africani, fiind descrise cazuri noi în peste 20 de țări (și din Europa).

Datele epidemiologice sugerează că transmiterea bolii se face printr-un agent infecțios, mai probabil viral, pe cale sangvină. În acest sens pledează o serie de date: caracterul epidemic (restrîns inițial la comunitățile de homosexuali din New York și California), apariția la persoane care au primit produse sangvine provenite de la bolnavii cu AIDS, transmiterea la partenerii bolnavilor cu AIDS (heterosexuali) și la copiii acestora etc. După unii autori, agentul infecțios este EBV sau CMV, deoarece aceste virusuri au fost izolate frecvent de la bolnavi și datorită titrurilor ridicate de anticorpi specifici. În plus, infecțiile cu ambele virusuri sînt însoțite de o depresiune a imunității celulare și de inversarea raportului T_H/T_S (Reinherz și colab., 1980; DeWalle și colab., 1981 — citați de Black și Levy, 1983). Colectivul de cercetători condus de Gallo a sugerat implicarea altui virus,

HTLV, pe baza prezenței anticorpilor anti-HTLV la bolnavii cu AIDS (Gallo și colab., 1983). Unii autori au respins această ipoteză, cu două argumente majore: anticorpii au fost prezenți numai la 25% din bolnavi și virusul HTLA induce proliferarea limfocitelor T_H , ceea ce contravine datelor de laborator obținute în AIDS. Totuși, foarte recent s-a reușit decelarea, izolarea și identificarea unui nou tip de HTLA (HTLA-III) de la persoane cu AIDS și pre-AIDS și s-a demonstrat prezența anticorpilor specifici pentru acest virus la majoritatea bolnavilor (Gallo și colab., 1984; Popovic și colab., 1984).

Virusul leucemiei-limfomului T uman (HTLV, ATL)

Descoperirea virusului leucemiei și al limfomului T uman s-a putut realiza grație identificării și purificării factorului de creștere a limfocitelor T, interleukina-2 sau TCGF ("T-Cell Growth Factor"). Problema principală pentru izolarea unui nou oncornavirus este posibilitatea cultivării *in vitro* a celulelor adecvate. Se știe că limfocitele T umane sînt incapabile să se multiplice în cultură, deci nu pot fi cultivate pe termen lung (liniile celulare existente sînt pre-B sau pre-T). Prin introducerea TCGF în mediu, au putut fi cultivate limfocite T mature normale, precum și cele provenite de la bolnavi cu leucemii și limfoame T (Poiesz și colab., 1980). Primele cercetări au început în 1980 și au dus la izolarea unui retrovirus dintr-o linie limfocitară T (HUT-102) derivată din ganglionii limfatici de la un bolnav, de 28 ani, cu limfom T cutanat (mycosis fungoides), foarte agresiv. Limfocitele au fost cultivate în prezența 5-iodo-2-dezoxiuridinei de la pasajul 4 pînă la pasajul 50 și au devenit producătoare de oncornavirus de tip C după pasajul 56 (Poiesz și colab., 1981). Ulterior, a fost izolat — în condiții similare — un virus foarte asemănător, probabil identic, din culturile de limfocite T sangvine (CTCL-2) provenite de la o bolnavă, de 64 ani, cu o formă particulară de leucemie T — sindromul S  zary. Virusul a fost denumit HTLV ("Human T-Lymphoma-leukemia Virus") și a fost analizat detaliat pentru a se exclude posibilitatea unei erori (Gallo și Reitz, 1982; Gallo, 1983; Kaplan, 1983; Wong-Staal și Gallo, 1982).

a) Revers-transcriptaza virusului este diferită de cea a altor retrovirusuri B, C sau D cunoscute (preferă ionii de Mg^{2+} , nu de Mn^{2+}), dar este antigenic diferită de singura RT cu același caracter, cea a virusului leucemiei bovine BLV) (Rho și colab., 1981). Lipsa înrudirii antigenice cu celelalte revers-transcriptaze cunoscute este un argument pentru un nou virus și exclude o contaminare de laborator.

b) ARN al genomului virusului (70S) este diferit de cel al altor oncornavirusuri. Copiile radioactive (cADN) nu hibridizează cu ARN al GaLV, SiSV, BaEV sau al virusului mieloblastozei aviare, ceea ce pledează pentru existența reală a HTLV, fiind o nouă dovadă împotriva unei contaminări de laborator. În celulele proaspăt izolate de la bolnavii cu leucemie sau limfom de tip T s-a constatat prezența ADN care hibridizează cu acizii nucleici virali, dar în limfocitele T normale nu, ceea ce demonstrează că nu este un virus endogen.

c) Proteinele structurale (ale nucleocapsidei) virale cu greutatea moleculară de 10; 12; 19; 24; 42 și 52 kilodaltoni sînt antigenic deosebite atît de cele ale altor retrovirusuri de tip B, C sau D, cît și de cele ale celulelor

umane normale. Numai p24 prezintă omologii limitate cu p24 al BLV (virusul leucozei bovine) (Kalyanaraman și colab., 1981; Oroszlan și colab., 1982). Asemănările cu BLV (p24 și revers-transcriptaza) sugerează originea lor ancestrală comună, dar trebuie să subliniem faptul că virusurile BLV și HTLV nu se transmit interspecii (Gallo, 1983).

Studiile epidemiologice au demonstrat prezența anticorpilor față de HTLV la bolnavii cu o formă particulară de leucemie sau limfom T și la rudele apropiate ale acestora, dar lipsa lor la persoanele sănătoase sau în alte hemopatii maligne: limfom Hodgkin, leucemia limfatică acută a copiilor, leucemia limfatică cronică cu celule T sau alte limfoame T și B. Limfoamele și leucemiile T în care s-a evidențiat prezența HTLV (prin hibridizare moleculară) au un aspect clinic caracteristic: debutează la adult, au evoluție rapidă și sînt caracterizate prin adenopatie, hepato-splenomegalie, hipercalcemie și în 50% din cazuri prezintă manifestări cutanate. Examenele de laborator evidențiază prezența unor limfocite mari, cu nuclei lobulați, cu fenotipul limfocitelor T helper (OKT4+), dar adesea cu funcție de limfocit T supresor.

Studiile efectuate în colaborare cu cercetătorii japonezi (Yoshida, Miyoshi, Hinumai, Yamamoto) au evidențiat un virus similar, sau identic, într-un tip particular de leucemie limfatică acută, ATL („Adult T-cell Leukemia“) care survine, în special, în insulele din sud-vestul Japoniei (Kyushu și Shikoku). Această formă de leucemie descrisă de imunologii Takatsuki și Uchiyama se caracterizează prin: splenomegalie, hipercalcemie, limfocite mari pleomorfe, OKT4+ (fenotip de helper), funcțional supresoare. Virusul izolat din culturile de limfocite provenite de la acești bolnavi, ATLTV („Acute T-cell Leukemia Virus“) este foarte asemănător, dacă nu identic, cu HTLV (Reitz și colab., 1982).

Studiile seroepidemice au demonstrat prezența anticorpilor anti-HTLV la 87% din bolnavii cu ATL, la 48% din rudele apropiate și la 12% din persoanele sănătoase din zonele endemice (comparativ cu 2% în zonele neendemice ale Japoniei). Recent s-a constatat prezența HTLV în Jamaica, la populația din India de Vest și la emigranții din această zonă, în America Latină (Venezuela, Brazilia, Ecuador), Africa și Israel.

Studiile sînt abia la început, așa că nu se cunoaște cu certitudine mecanismul de transmitere a bolii, nici modul de transformare. Se pare că transmiterea se face prin contact, strîns și îndelungat, de la om la om — prin alăptare sau contact sexual — eventual prin transfuzii sau vectori (insecte). Din fericire, nu toți cei care se infectează cu virus fac boala. În Japonia se estimează că aproximativ un milion de persoane din zonele endemice sînt infectate (au anticorpi), dar numai sub 100 fac boala (Sugimura, 1983). Nu s-a evidențiat însă o legătură între antigenele de histocompatibilitate și susceptibilitatea la îmbolnăvire.

Virusul are activitate transformantă *in vitro*, demonstrată de Miyoshi și colab., prin cocultivarea celulelor infectate cu ATLTV cu limfocite T umane normale provenite din cordonul ombilical și, uneori, chiar prin preparate virale acelulare. HTLV prezintă un tropism exclusiv pentru o subpopulație de limfocite T (T helper) mature. Se pare însă că virusul nu conține o onco-genă, iar transformarea ar putea fi produsă de integrarea virusului într-o zonă particulară din genomul celular.

Date foarte recente sugerează că există mai multe tipuri de HTLV:
 — HTLV-II a fost izolat de la un bolnav cu o variantă T de leucemie cu celule păroase,
 — HTLV-III a fost găsit la bolnavi cu AIDS și pre-AIDS (Gallo și colab., 1984).

Virusurile Papiloma umane (HPV)

În ultimii ani s-a constatat că grupul de virusuri Papiloma umane este mult mai heterogen decât s-a crezut inițial. Identificarea unor noi tipuri de virusuri s-a putut realiza numai prin procedee de hibridizare moleculară a acizilor nucleici, deoarece virusurile nu pot fi cultivate *in vitro*. În 1983—1984 au fost semnalate 18 tipuri (Tabel 11.VI) și s-au adus argumente în favoarea implicării unora din aceste virusuri în câteva cancere umane: cancerul colului uterin, colonului, degenerescența malignă a epidermodisplaziei veruciforme.

TABELUL 11.VI

TIPURILE DE HPV ȘI LEZIUNILE INDUSE DE ELE
 (MODIFICAT, DUPĂ ROY ȘI COLAB., 1983)

Leziunea	Tipul virusului	Autor
Veruci plantare	HPV-1	Faure și colab., 1975
Veruci cutanate comune	HPV-2, HPV-7	Orth și colab., 1977, 1981
Veruci plane și epidermodisplazia veruciformă	HPV-3, HPV-10	Orth și colab., 1978; Jablonska și colab. 1978
Veruci în mozaic	HPV-4	Gissmann și colab., 1977
Epidermodisplazia veruciformă	HPV-5, 8, 9, 12	Heilman și colab., 1980
Condiloame	14 (?), 15 (?)	Orth și colab., 1980; Pfister și colab., 1981; Kremsdorf și colab., (1982)
	HPV-6, HPV-11, 16, 18	Gissmann și colab., 1982, 1983; Dürst și colab., 1983; Crum și colab., 1984
Papiloame laringiene	HPV-11	Gissmann și colab., 1983

a) *Epidermodisplazia veruciformă* este o boală genetică rară, autosomală recesivă, care debutează în copilărie (în jur de 9 ani) și se caracterizează prin apariția unor veruci plane sau de tip pitiriazic (macule roșii-brune sau depigmentate diseminate). Boala are o evoluție cronică, dar la o treime din cazuri s-a observat degenerescența malignă după o perioadă lungă de latență (între 2 și 24 ani). Au fost semnalate carcinoame *in situ* de tip bowenoid, spinocelulare sau bazocelulare, în special în zonele expuse la soare (față, ceafă). Se pare că în apariția cancerului intervine o deficiență în refacerea defectelor, induse de radiații, de la nivelul ADN și o scădere a imunității (Lutzner, 1978). În ultimii ani s-a văzut că degenerescența malignă depinde de tipul de HPV infectant: HPV tip 3 nu produce transformarea malignă, chiar în prezența imunodepresiei, în timp ce HPV-5 și 10 prezintă activitate transformantă.

b) Numeroși autori susțin, pe baza studiilor epidemiologice, citologice-histologice, de microscopie electronică, biochimice și imunologice, că Papi-

loma-virusurile umane joacă un rol important în apariția cancerului colului uterin.

Epidemiologic s-a constatat incidența relativ mare a condiloamelor cervicale plate (2% din populație) induse de HPV și transmiterea lor sexuală. Se pare că această leziune latentă, subclinică, precedă, în medie, cu 3,3 ani displazia cervicală, cu 9,3 ani carcinomul *in situ* și cu 27,4 ani carcinomul invaziv (Roy și colab., 1983; Reid și colab., 1980—1983; Meisels și Morin, 1981). În plus, în 25—50% din cazurile de displazie și neoplazie a fost semnalată coexistența condiloamelor cervicale sau ale vulvei.

Microscopic, condiloamele rezultate în urma infecției cu HPV prezintă un aspect foarte asemănător cu cel al displaziilor agravate și al carcinoamelor *in situ*, cu care adesea au fost confundate. Caracteristică este prezența unor celule scuamoase cu nucleu picnotic, hiperchromatic, înconjurat de un halou reprezentat de o cavitate perinucleară care îl separă de citoplasma densă, dispusă periferic. Aceste celule, denumite koilocite, pot să prezinte diploidie, poliploidie sau, mai rar, aneuploidie și mitoze anormale. Primele nu degenerază malign și regresează adesea spontan, ultimele însă progresează frecvent în neoplazie intraepitelială și, uneori, în cancer invaziv.

Infecția cu HPV a fost dovedită prin microscopie electronică și prin evidențierea antigenelor virale în 46—80% din condiloamele cervicale. Aceste antigene sînt absente în celulele normale, dar și în alte tipuri de leziuni, inclusiv în cancer *in situ* sau invaziv. Se pare că degenerarea condiloamelor depinde de tipul HPV infectant (tabelul 11.VI). S-a constatat că în verucile genitale pot să apară două tipuri înrudite genetic, HPV-6 și 11, dar numai ultimul a fost evidențiat uneori în ADN celulelor canceroase, sub formă de provirus (prin procedeu de hidrolizare moleculară) HPV-11 (la 5 din 27 biopsii) (Gissmann și colab., 1983). Se pare că alte tipuri, HPV-16 și HPV-18, identificate recent, apar cu o frecvență mult mai mare (72,2%) în celulele canceroase (Durst și colab., 1982; Gissmann și colab., 1983).

În plus, s-a dovedit că ADN al HPV-16 are activitate transformantă *in vivo* și *in vitro* (transformă celulele epiteliale normale în maligne), ceea ce sugerează că ar putea fi considerat virus oncogen „candidat”.

Cu toate că studiile seroepidemiologice au implicat virusul herpes simplex II în cancerul colului uterin, numai în 30% din cancerele invazive s-a putut demonstra prezența unor amprente virale (Fenoglio și Lefkowitz, 1983). Pentru a reconcilia aceste date contradictorii, Schlehofer și zur Hansen (1982) au propus un model multistadial, în apariția acestui cancer în care intervin ambele virusuri. Virusul Herpes Simplex (HSV) ar acționa ca un agent de inițiere, prin capacitatea lui puternic mutagenă, iar HPV ar putea avea rolul de promotor. Conform acestei ipoteze, persoanele la care survine o infectare a papiloamelor sau condiloamelor cu HSV prezintă un risc crescut de a face cancerul colului uterin. Cercetările sînt abia la început. Prezența particulelor virale (HPV) în neoplaziile cervicale intraepiteliale și în zonele din jurul cancerelor, precum și a amprentelor virale în celulele maligne sugerează implicarea posibilă a acestor virusuri în cancerul de col uterin, dar nu constituie argumente indubitabile ale rolului lor etiologic.

În acest domeniu controversat și în continuă schimbare al virusurilor oncogene, ceea ce astăzi pare esențial, mâine poate fi doar un amănunt nesemnificativ.

Monica Crișan

Bibliografie

- BLACK B. H., LEVY E. M. — *New Engl. J. Med.*, 1983, 309, 856—857.
CRUMC. P., IKENBERG H., RICHART R. M., GISSMANN L. — *New Engl. J. Med.*, 1984, 310, 880—883.
CURRAN J. W. — *New Engl. J. Med.*, 1983, 309, 609—611.
DAUL C. B., DeSHAZO R. D. — *Ann. Allergy*, 1983, 51, 351—361.
DURAK D. T. — *New Engl. J. Med.*, 1981, 305, 1 465—1 467.
DURST M., GISSMANN L., IKENBERG H., Zur HAUSEN H. — *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)*, 1983, 80, 3 812—3 815.
FENOGLIO C. M., LEFKOWITCH J. H. — *Med. Clin. N. Amer.*, 1983, 67, 1 105—1 127.
FRANCIOLI P. — *Schweiz. med. Wschr.*, 1983, 113, 938—942.
GALLO R. C., REITZ M. S. Jr. — *J. nat. Cancer Inst.*, 1982, 69, 1 209—1 211.
GALLO R. C. — *Hosp. Practice*, 1983, 79—89.
GALLO R. C. și colab. — *Science*, 1984, 224, 500—503.
GOTTLIEB M. S., GROOPMAN J. E., WEINSTEIN W. M. și colab. — *Ann. intern. Med.*, 1983, 99, 208—220.
GISSMANN L., WOLNIK L., IKENBERG H. și colab. — *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)*, 1983, 80, 560—563.
HANTO D. W., FRIZZERA G., GAJL-PECZALSKA K. J. și colab. — *New Engl. J. Med.*, 1982, 306, 913—918.
KAPLAN H. S. — Retroviruses in human leukemias and lymphomas, in „Accomplishments in Cancer Research” (sub red. Fortner J. G., Rhoads J. E.), J. B. Lippincott Co., Philadelphia — Toronto, 1983, p. 174—189.
KHAN F. A., WOLLSCHLAGER C. M. — *Postgrad. med.*, 1983, 74, 180—185, 188—191.
LEBOWITZ P. — *Yale J. Biol. Med.*, 1983, 56, 121—129.
MEISELS A., MORIN C. — *Gynec. Oncol.*, 1981, 12, 111—112.
POPOVIC M. și colab. — *Science*, 1984, 224, 497—499.
REID R. — *Gynec. Oncol.*, 1983, 15, 239—252.
REITZ M. S., POIESZ B. J., RUSCETTI F. W., GALLO R. C. — *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)*, 1981, 78, 1 887—1 891.
ROY M., MORIN C., CASAS-CORDERO M., MEISELS A. — *Clin. Obstet. Gynec.*, 1983, 26, 949—967.
SCHROFF R. W., GOTTLIEB M. S., FRINCE H. E. și colab. — *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1983, 27, 300—314.
WEISS R. A. — Viral mechanisms of carcinogenesis, in „Host Factors in Human Carcinogenesis” (sub red. Bartsch H., Armstrong A., Davis W.), IARC Sci. Publ., New York, 1982, p. 307—316.
WONG-STAAAL F., GALLO R. C. — Retroviruses and leukemia, in „Leukemia” (sub red. Henderson E. S.), Grune & Stratton, New York, 1982, p. 329—358.
YOSHIDA M., MIYOSHI I., HINUMA Y. — *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)*, 1982, 79, 2 031—2 035.

17.

Alimentația și cancerul

Vom expune succint concluziile cercetărilor efectuate în ultimii ani în această problemă; pentru detalii, recomandăm următoarea bibliografie:

1) Pernet Langley-Danyez: Cancer, les risques de l'alimentation. La Recherche, 1983, dec., no. 150, vol. 14; 2) Diet, nutrition and cancer. National Academy Press, 1982; 3) Ames N.B.: Science, 1983, 221, 1255; 4) Ames N.B. și col.: Lipid peroxidation in biology and medicine. In: K. Yagi (ed.) Academic Press, New York, 1982; 5) Doll R. și Peto R.: The causes of cancer. Oxford med. Publ., 1981; 6) Dupin H.: Aports nutritionnels conseils. Technique et documentation, 1981;

Concluziile tuturor studiilor epidemiologice și experimentale converg spre: alimentației i se recunoaște din ce în ce mai mult un rol direct în etiologia unor cancere (sîn, stomac, colo-rectal, hepatic, pancreatic, prostatic etc.); este remarcat faptul că o alimentație judicioasă poate juca un rol de protecție contra unor cancere;

se pune accentul nu numai pe faptul că s-ar găsi substanțe cancerigene în unele alimente (sau generate de modul de preparare sau conservare a lor), dar se insistă asupra faptului că o alimentație cu prea multe grăsimi, abuzul de calorii, lipsa de lactate, cereale, legume și fructe, lipsa de fibre în rația alimentară, ar juca un rol important în oncogeneză;

se apreciază că o treime din cancerele la bărbați și două treimi din cancerele femeilor sînt legate direct de alimentație (Doll și Peto 1981).

Studiile epidemiologice demonstrează importanța regimului alimentar.

Comparăm incidența cancerului în țări cu alimentație diferită (SUA: regim hipercaloric, bogat în grăsimi, carne, ouă, dulciuri; Nigeria: regim hipocaloric sau normocaloric, sărac în grăsimi, carne, ouă, dulciuri și bogat în cereale, legume, fructe, cu abundență de fibre) (tabelul 17.I.)

TABELUL 17.I

(P. LANGLEY-DANYEZ — LA RECHERCHE, 1983)

Natura cancerului	Incidența anuală la 100 000 locuitori (populație între 35—64 ani)		
	Nigeria	S.U.A. (San Francisco)	
		Negri	Albi
Colon (♂)	3,4	34,9	29,4
Rect (♂)	3,4	15,9	21,7
Prostată	13,4	72,4	31,8
Sîn (♀)	33,7	126,6	182,8

Intervenția alimentației în oncogeneză mai este dovedită și prin studii epidemiologice asupra incidenței cancerelor la populația băștinașă (de exemplu: Japonia), obișnuită cu o alimentație caracteristică și aceeași populație de emigranți (japonezii stabiliți în SUA — Statul Hawaii) ce-și însușesc felul de alimentație a țării gazdă. Începînd cu a doua generație, emigranții japonezi fac cancere ca și populația băștinașă a țării gazdă (SUA) (tabelul 17.II.).

TABELUL 17.II.

(LANGLEY-DANYEZ — LA RECHERCHE, 1983)

Natura cancerului	Incidența anuală la 100 000 locuitori (populație între 35—64 ani) (japonezi)	
	Japonia	Japonezi emigranți S.U.A. — Statul Hawaii
Esosag (♂)	15,0	4,6
Stomac (♂)	133,1	39,7
Colon (♂)	7,8	37,1
Rect (♂)	9,5	29,7
Prostată (—)	1,4	15,4
Sîn (♀)	33,5	122,1

S-a constatat existența unui raport direct între supraponderabilitate, consecința unei alimentații neraționale, și unele cancere (fig. 17.6).

Modul de prăjire a alimentelor: s-a demonstrat încă de acum 20 ani, că uleiul și grăsimile alimentare supraîncălzite (arse) formează substanțe mutagene de tipul benzpiren (W. Lijinski; Shubik — Science, 1964, 145).

Recent (J.W. Howard și Fazio T., J. Assoc. Off. Anal. Chem, 1980, 63, 1077 s-a arătat că poliesterii mutageni se formează la suprafața cărnii (vită, pește) și piinii prăjite la grătar sau la flacără. În cafeaua prăjită s-au găsit aceleași substanțe puternic mutagene (substanțele apar când temperatura de prăjire depășește 250°C).

Autorii japonezi (Akimoto H. ș.a. — Chem. Lett., 1977, 9, 1061) au arătat că substanțele mutagene — pirolizate — pot proveni din arderea triptofanului, globulinei, grăsimilor de vită sau pește. Acești pirolizați ai triptofanului pot produce aberații cromozomiale în timpul diviziunii celulare și pot induce cancere la șoareci.

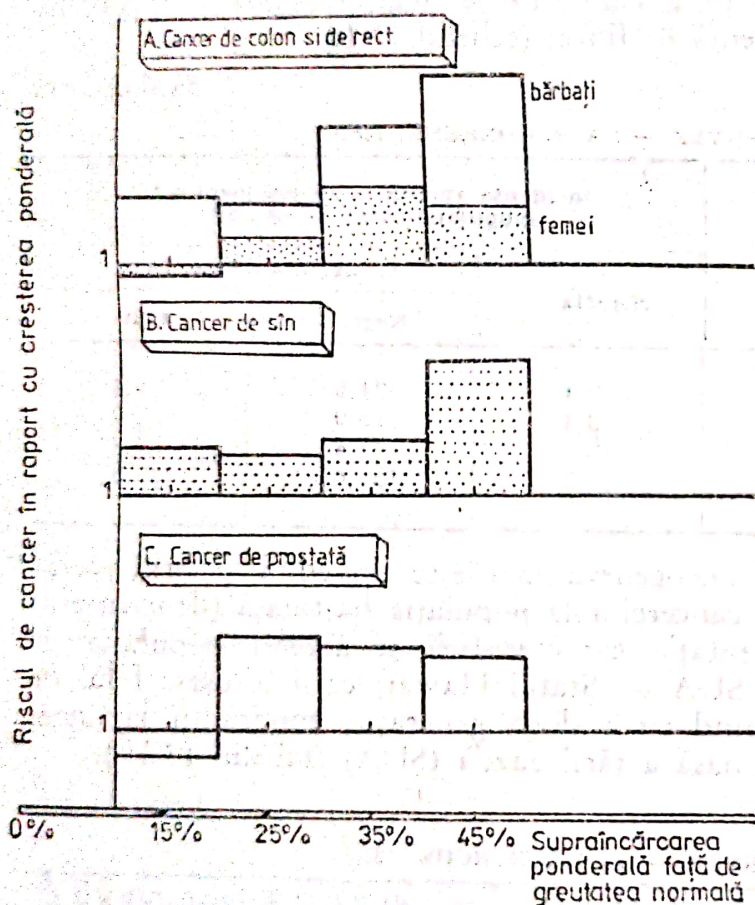


Fig. 17.6

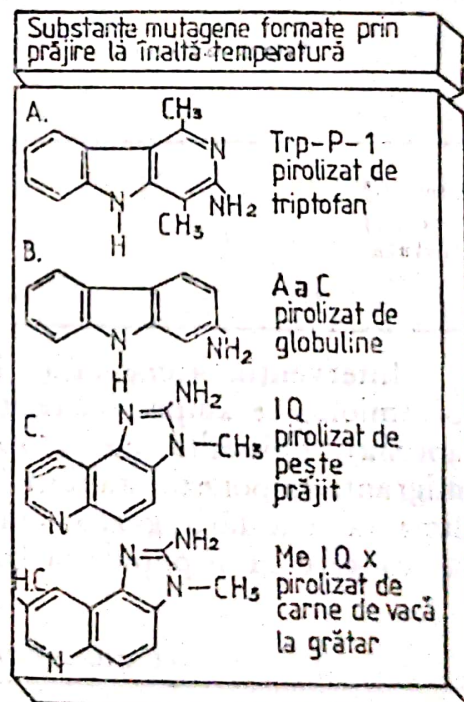


Fig. 17.7

Fig. 17.7 arată formulele chimice ale substanțelor mutagene (studiu pe bacterii) sau cancerigene (la șoareci) „pirolizate”. Nu există pînă în prezent dovezi că ele ar fi cancerigene și pentru oameni. La fiecare substanță mutagenă este indicată și sursa din care derivă prin ardere la temperaturi înalte.

Factorii alimentari de protecție anticanceroasă individualizați pînă în prezent sînt următorii:

a) **Fibrele alimentare** (ipoteză lansată de Burkitt în 1969). Fibrele din alimentația vegetală ce sînt protectoare conțin lignină, celuloză și diverse pentoze și hexoze. Deci, nu orice fibră vegetală are valoare protectoare.

Fibrele din vegetalele ce aparțin familiei crucifere (varză, varză de Bruxelles, conopidă) oferă o protecție evidentă contra cancerelor digestive, mai ales dacă sînt consumate crude (Graham S. și col. — J. Natl. Cancer Inst., 1978, 51, 709).

Aceste vegetale, pe lîngă fibre conțin și indoli, substanțe protectoare contra mutagenilor și cancerigenilor de tip benzpiren. Se întrevide și rolul protector al unor enzime antioxidante conținute în aceste vegetale.

Este momentul aici să amintim rolul radicalilor oxigenați generați de factorii cancerigeni alimentari sau chimici (ipoteza lui Bruce N. Ames).

De exemplu, unii cancerigeni chimici (săruri de plumb, cadmiu, gudroane, azbestul) acționează prin generarea unor radicali oxigenați care antrenează peroxidarea lipidelor celulare, fapt ce produce modificări structurale ale membranelor celulare, cu repercusiuni asupra procesului mitozei.

Din fericire, organismul posedă mecanisme naturale contra formării de radicali oxigenați (mecanismele enzimatice antioxidante).

Unele alimente vegetale și fructe (varza, grîul germinat, pătrunjelul, merele etc.) conțin substanțe antioxidante (varza conține indoli, morcovii conțin beta-caroten) (B.N. Ames — Science, 1983, 221, 1255).

Rolul protector al unor vitamine

Vitamina A propriu-zisă (retinolul) sau precursorul ei, beta-carotenul, au un rol protector anticanceros prin efectul lor antioxidant.

Vitamina A (retinolul) se găsește în gălbenușul de ou, lapte și derivatele sale, țesutul hepatic, morcovi, pătrunjel ș.a.

Efectul protector anticanceros este dovedit experimental. Excesul de vitamină A în alimentație este fără efect, deoarece există un control homeostazic al conținutului ei în sînge. Totuși, administrarea excedentară mult timp duce la o întreagă patologie a hipervitaminozei A.

Precursorul vitaminei A, beta-carotenul, este un antioxidant puternic, neutralizînd moleculele conținînd oxigen activ și se pare că aceasta ar fi explicația efectului anticancerigen.

Din 1982, în SUA se încearcă pe un lot de 28 000 medici care s-au oferit benevol să ia zilnic un comprimat de beta-caroten (în timp ce jumătate din lot iau un comprimat de placebo) efectul anticancerigen al betacarotenului. „Experimentul” în masă va fi încheiat în 1986, cînd se vor publica rezultatele.

Rolul protector al vitaminei C este deseori citat. Se susține că citricele (bogate în vitamina C) ar proteja esofagul și stomacul contra cancerului.

Nu există încă confirmarea definitivă a efectului protector al acestei vitamine. Se afirmă că vitamina C ar împiedica transformarea nitriților în nitrozamine.

Vitaminei E și vitaminelor din grupul B li se acordă de asemenea un rol protector, neverificat total pînă în prezent.

În concluzie, se dovedesc a fi protectoare: alimentele vegetale, fructele, derivatele de lapte, tărîțele de cereale, cerealele germinate și bogate în fibre, bogate în vitamină A, beta-caroten și vitamină C.

Obezitatea și regimul hipercarnat sînt riscante. Nitrozaminele, gudroanele din alimentele afumate sau alimentele prăjite (cafeaua, cărnurile, pîinea) trebuie evitate.

Concluzia lui Doll și Peto (1981) este că prin alimentație rațională se poate efectua o profilaxie eficace în 35% contra cancerelor *care nu au un substrat transmisibil genetic* (ereditar). Profilaxia prin alimentația rațională ar fi eficientă în 90% pentru cancerle digestive, 50% pentru cancerle de sîn și pancreas, 20% pentru cancerle aparatului urinar și cancerle pulmonare (pericolul fumatului).

I. Chiricuța

18.

Fumatul și cancerul

În anul 1970 OMS s-a angajat cu hotărîre în lupta contra fumatului, cerînd printr-o rezoluție a Adunării generale ca guvernele să adopte măsuri pentru combaterea tabagismului.

Motivația unei asemenea atitudini a izvorît din constatarea că bolile de origine tabagică reprezintă obstacolul major în vederea instaurării sănătății pe plan mondial „de acum pînă în anul 2000”.

În fiecare an în întreaga lume mor prematur peste 1 milion de fumători de țigarete. Margaret M. Heckler secretar la Departamentul Sănătății și Servicii Sociale din SUA a reliefat faptul că un caz din 3 decese prin cancer este dat de fumat.

Dacă în anii '70 experții americani apreciau că substanțele chimice cancerigene de la locul de muncă (azbestul, benzenul, cromul etc.) sau cele existente în cadrul general al poluării mediului constituie principala cauză a cancerului, astăzi această opinie este contrazisă de realitate. Cercetătorii englezi Doll și Peto au arătat că prezicerea grupului de lucru american potrivit căreia între 20—30% din numărul total de îmbolnăviri prin cancer vor fi cauzate de factorii amintiți nu s-a adeverit, întrucît în perioada prevăzută mai puțin de 8% din canceri au avut drept cauză poluarea mediului de lucru și poluarea generală. Concluzia cercetătorilor britanici era că peste 2/3 din decese prin cancer pot fi atribuite modului de viață (regimului alimentar) și fumatului, acesta din urmă fiind cauză de mortalitate prin cancer în 30%. Lederberg, președintele Universității Rockefeller din New York, savant decernat cu premiul Nobel afirma că „nici un produs chimic cancerigen nu are un efect comparabil cu fumatul în cancerizarea pulmonului”.

Propagarea fumatului în lume vine în contradicție evidentă cu țelurile OMS și nu se poate spera ca acestea să fie atinse dacă țările lumii a treia vor fi lăsate să evolueze spre situația din țările industrializate unde flagelul tabagismului a luat proporții epidemice comparabile cu situația din trecut a bolilor transmisibile (holeră, ciumă etc.). Situația este alarmantă pentru țările în curs de dezvoltare din mai multe motive:

— Producția de tutun în acest grup de țări a atins în prezent circa 65% din produsul național brut față de 50% în anul 1961: India se situează pe locul trei în producția mondială de tutun, iar în Filipine veniturile realizate prin cultivarea tutunului se situează imediat după cele obținute prin petrol;

— Conținutul de gudron și nicotină al țigaretelor consumate de populația acestor țări este mult crescut în raport cu cel al țigaretelor din țările vestice;

Exemplu: în China, India, Filipine etc. conținutul gudron al unei țigaretete este între 21—33 mg în raport cu 0,5—20 mg în țările industrializate;

— Consumul general și pe cap de locuitor al produselor tabagice din țările în curs de dezvoltare depășește pe cel al țărilor industrializate. De exemplu: în Tailanda 1/5 din populația în vârstă de peste 10 ani fumează, consumul mediu de țigaretete fiind de 10 țigareti/zi și cap de locuitor;

— Avându-se în vedere scăderea numărului de fumători în America de Nord, Australia, țările scandinave etc., ca urmare a reglementărilor legale puternic restrictive și a activității de educație sanitară a marelui public, fabricanții și comercianții de țigaretete au adoptat o nouă strategie de dirijare a surplusului de țigaretete produse în țările lor spre țările lumii a treia. Capitaliștii sînt direct interesați în a obține profituri cît mai mari vînzînd țigaretete cu conținut ridicat de gudron prin faptul că:

— prepararea acestora este mai rapidă și la un preț de cost scăzut;

— obișnuința și dependența este cu atît mai puternică cu cît conținutul de gudron al țigaretetelor este mai mare.

— Mortalitatea prin bolile cauzate de produsele tabagice în general, a cancerului pulmonar în special este în creștere și în aceste țări. Exemplu: în Filipine cancerul pulmonar este localizarea cea mai frecventă la bărbați și cu tendință de creștere la femei, iar în Tailanda într-o perioadă de mai puțin de 15 ani (1964—1978) mortalitatea prin cancer pulmonar s-a dublat, iar în Hong-Kong rata mortalității prin cancer pulmonar a atins nivelul cel mai înalt, pentru sexul feminin, în lume (23,7‰).

Efectul negativ al tutunului nu se limitează numai la fumători, ci cuprinde și persoanele nefumătoare care fără voia lor inhalează fumul produs de alții. Gradul de afectare a nefumătorilor cuprinde o gamă largă, de la efectul iritativ al nasului și ochilor (strănut, lăcrimare), declanșarea de crize la astmatici și cardiovasculari, pînă la apariția cancerului pulmonar. Într-un studiu recent Hirayama confirmă cele consemnate de altfel și de noi, așa cum rezultă în tabelul următor:

TABELUL 13 V.

**RISCU FEMEILOR NEFUMĂTOARE DE A FACE CANCER PULMONAR
PRIN FUMAT PASIV**

Condiția	Raportul Masc./Fem. a ratel de mortalitate	Risc procentual
soțul nu fumează	1,0	0 %
soțul nu mai fumează (fost fumător)	1,36	36 %
soțul fumează 1—14 țig./zi	1,42	42 %
soțul fumează 15—19 țig./zi	1,58	58 %
soțul fumează peste 20 țig./zi	1,91	91 %

Sursa: Passive Smoking and Lung Cancer; Consistency of Association-Lancet (1983), 2 : 1425—26

După cum se vede o soție nefumătoare ce trăiește alături de un soț fumător a peste 20 țigaretete pe zi are aceeași șansă de a face cancer pulmonar ca și soțul ei fumător.

Pledoaria economică pentru menținerea tutunului și a produselor sale ca sursă de venituri pentru stat și populație este lipsită de temei, așa cum arată

numeroase studii. Pentru țările în curs de dezvoltare, dacă producția și exportul de tutun contribuie la creșterea produsului național brut, de cele mai multe ori acesta se face în detrimentul sănătății și uneori cu deficiențe în producția alimentară. Taxele asupra tutunului nu cresc avuția națională, ci realizează mai degrabă o simplă redistribuire a acesteia. În nici un caz nu poate fi vorba de o compensare a pierderilor economice provocate de producția și utilizarea tutunului și produselor sale: cheltuielile provocate de bolile „tabagice”, incapacitatea temporară de muncă, absenteismul profesional, incendii, consumul inutil de energie legat de prelucrarea tutunului, scăderea producției alimentare. Un studiu efectuat într-una din cele mai industrializate țări (RFG) arată că în raport cu cele 20 de miliarde mărci realizate anual prin impozite asupra tutunului, statul cheltuiește între 70—80 de miliarde mărci la cei 140 mii de oameni ce mor din cauza bolilor provocate de fumat și la cei circa 100 000 invalizi pe viață.

Lupta împotriva fumatului trebuie continuată pe toate planurile și cu toate mijloacele, rezultatele favorabile, primele succese fiind încurajatoare mai ales în țările în care publicul este din ce în ce mai bine informat asupra efectelor nefaste ale fumatului. Consumul de țigarete a scăzut cu 7% în Anglia (1982) procentajul de fumători din populația Franței a scăzut de la 44% la 37% pentru ambele sexe în perioada 1976—1982, ca și numărul de fumători constanți sau ocazionali din Norvegia și Suedia. Cercetătorii francezi au evidențiat un raport invers între activitățile sportive și fumat:

- cu cât atleții se consacră mai mult unei discipline sportive, cu atât ei fumează mai puțin;
- atleții fumători nu practică sportul decât ocazional;
- peste 75% din sportivii de clasă internațională nu sînt fumători și
- proporția de nefumători printre participanții la Jocurile Olimpice este de 100%.

Decepția majoră în lupta contra fumatului o constituie atitudinea corpului medical fumător, conștient de pericolul fumatului (statisticile daneze arată că 65% din medicii generaliști fumează, 1/4 din aceștia chiar în fața pacienților lor).

Există, ce e drept foarte rar, chiar atitudini de frondă, de contestare a efectelor dăunătoare a fumatului de țigarete. Într-o secțiune intitulată „Dez-acord și non conformism” din *Journal of Chronic Diseases* (36/10:669—676/1983) Sterling discută, în general pe bază de impresii fără suport statistic „efectele posibile în cancerul pulmonar profesional date de modificarea conținutului mucusului bronșic prin fumat”. Cohen și colab. prin folosirea unor tehnici magnetometrice au constatat existența unei cantități mai scăzute de particule de praf în plămînul fumătorilor în raport cu cel al nefumătorilor. Autorii atribuie această scădere a cantității de praf în plămînul fumătorilor ca urmare a bronhioloconstricției. Alte studii au arătat că particulele de praf au proprietăți magnetice ce le fac să migreze diferit în plămîntul fumătorilor în raport cu al nefumătorilor. Oricare ar fi cauzele, această observație coroborată cu alte dovezi, sugerează că modificările mediului intern al plămînilor date de fumatul de țigarete duc la o mai eficientă eliminare a prafului profesional și a aerosolilor toxici la cei care fumează. Aceste condiții ar putea explica faptul că unele cercetări au evidențiat un număr mai mic de cancere și boli ale plămînului printre fumători în raport cu nefumătorii. Unele experimente, în care la cîinii de vînătoare expuși la praf de uraniu asociat cu fum de țigarete

au apărut mai puține cancere ale căilor respiratorii decât la cîinii expuși numai prafului de uraniu, ar veni în sprijinul observațiilor semnalate. Mecanismul de apărare în acest caz s-ar explica printr-o cantitate mai crescută de mucus bronșic, care ar facilita eliminarea mai rapidă și eficientă a noxelor inhalate. Dar, Cross și colab. care au efectuat aceste experimente *nu au comparat cantitatea relativă de praf sauși de mucus din plămîinii animalelor de experiență*. De altfel în articol nu se dau nici un fel de date comparabile statistic care ar putea susține rezultatele discutate. Autorul însuși conchide: „sînt necesare studii experimentale pe animale corespunzătoare, iar dacă mucusul ar avea proprietăți de protecție (a mucoasei bronșice n.n.), trebuie găsite metode în vederea creșterii stratului de mucus la muncitorii fumători și nefumători expuși riscului profesional. Dacă cele arătate constituie o excepție, regula, arătată de majoritatea zdrobitoare a studiilor efectuate pînă în prezent, validate în comisiile OMS, se referă la faptul că în multiple tipuri de industrii afecțiunile respiratorii în general și cancerul plămînului în special apar mult mai frecvent la muncitorii fumători.

Lupta împotriva fumatului nu are drept scop pedepsirea fumătorului, ea urmărește ca individul să fie convins de faptul că *a nu fuma este normal*. Iar potrivit Comisiei de Experți, OMS nu poate angaja discuții cu companiile internaționale de tabac, decât în momentul cînd acestea vor recunoaște public că *utilizarea produselor de tutun este una din cauzele evitabile a bolilor și a morții*.

G. Bolba

27.

Markerii biologici în cancer

În 1975 Köher și Milstein au pus la punct tehnica de preparare „in vitro” a anticorpilor monoclonali (vezi capitolul „Imunologia tumorilor”).

Această descoperire a pus la îndemîna cercetătorului oncolog un instrument de lucru de mare specificitate și sensibilitate în evidențierea markerilor tumorali, deschizînd totodată perspective terapeutice de real interes.

După anul 1980 au apărut numeroase lucrări care demonstrează utilitatea anticorpilor monoclonali în evidențierea unor antigene tumorale, receptori sau hormoni. În fiecare an apar aproximativ 5.000 de noi hibridoame. Din acestea o mare parte sînt generate prin imunizări cu diferite tipuri de celule tumorale. Numărul mare de tipuri de anticorpi monoclonali care apar zilnic în literatura de specialitate, precum și diferitele lor denumiri, fac imposibilă o clasificare a acestora. Din acest motiv ne vom limita la a enunța numai principiile generale care stau la baza utilizării anticorpilor monoclonali în diagnosticul tumorilor maligne primare și secundare.

Anticorpii monoclonali se utilizează pentru decelarea a 2 categorii de antigene:

- 1) a antigenelor circulante desprinse de pe celulele tumorale (de exemplu: CEA, LFP, Ca, etc.);
- 2) a antigenelor existente la nivelul celulelor tumorale și care nu se exfoliază (de exemplu: TATA; TADA).

1) În prima situație, anticorpul monoclonal se utilizează în diagnosticul la distanță al tumorilor maligne, în monitorizarea tratamentului și în evaluarea prognosticului.

Avantajul anticorpilor monoclonali în detectarea antigenelor tumorale circulante constă în înalta specificitate cu care aceștia se leagă de un singur determinant antigenic din întreaga moleculă de antigen. De exemplu: anticorpul convențional anti-CEA reacționează încrucișat și cu glicoproteinele normale nespecifice (NCA). Spre deosebire de aceștia, anticorpul monoclonal VII-23 face discriminare între CEA specific tumoral și NCA (Lombroso și colab. 1983).

Anticorpul monoclonal se utilizează și în decelarea antigenelor Ca evidențiate recent în numeroase tumori solide umane. (Magee și colab. 1982; Ashall și colab. 1982). Aceste antigene sînt de natură glico-lipidică (greutate moleculară 35 000 și 39 000) și pot fi decelate atît pe celulele canceroase, cît și în sînge sau în lichidul ascitic. Unii autori consideră că antigenele Ca reprezintă un veritabil marker pentru malignitate, excepție făcînd doar melanoamele, limfoamele, tumorile primitive ale SNC și ale organelor de reproducere.

În ultimii ani, în clinica oncologică se utilizează anticorpul monoclonal pentru decelarea unor antigene circulante specifice pentru diferite categorii de tumori (dcelare radio-imună sau imuno-enzimatică). De exemplu: anticorpul 19-9 preparat de colectivul condus de Koprowski (1979-80) dă reacții pozitive în 50% din cazurile de cancer de colon și 100% din cazurile de cancer gastric și pancreatic; anticorpul OC 125 dă reacții pozitive cu antigenul CA 125 al cancerului epitelial ovarian în 82% din cazurile cu tumori maligne ovariene față de 1% la persoanele sănătoase (Bast și colab. 1983).

2) Anticorpul monoclonal se utilizează în scop diagnostic și pentru evidențierea antigenelor existente pe celulele tumorale și care nu se exfoliază. De exemplu:

a) în leucemii și limfoame, pentru precizarea tipului de celule care proliferază malign și a stadiului în care diferențierea acestor celule este blocată. În acest scop se utilizează anticorpi monoclonali dirijați împotriva antigenelor de diferențiere ale liniei limfocitare T (OKT; unele Leu); ale liniei limfocitare B (B; BA); sau ale liniei mielocitare (OKM; unele Leu) etc. (Conference on Cell Markers in Acute Leukemia 1981; Thiel 1983, Bernard și colab. 1981; Han și colab. 1983; Barcos și colab. 1983);

b) în identificarea histologică a originii tumorii maligne la cazurile la care boala se manifestă clinic prin metastaze.

Pînă în prezent există o mare varietate de anticorpi monoclonali față de o serie de tumori maligne umane: cancere de colon, gastrice, pancreatice, mamar, pulmonare, ovariene, prostatice, renale, melanoame, sarcoame osteoide, neuroblastoame, teratoame etc.

Antigenele tumorale specifice pot fi decelate pe preparate histologice din metastaze utilizînd anticorpi monoclonali cuplați cu substanțe fluorescente sau cu enzime (teste imuno-fluorescente sau imuno-enzimatice) (Burtin și Nardelli, 1983; Sorg și colab. 1983; Colcher și colab. 1983; August și Murphy 1983);

c) în diagnosticul *in vivo* al cancerelor reziduale, al metastazelor și recidivelor.

În acest scop se injectează i.v. anticorpi monoclonali specifici pentru tumoarea respectivă marcați cu un izotop radioactiv. Fixarea acestora la nivelul tumorii se decelează prin imunoscintigrafie sau prin tomoscintigrafie computerizată. În decelarea radioimună *in vivo* a tumorilor și/sau metastazelor se pot

1) În prima situație, anticorpul monoclonal se utilizează în diagnosticul la distanță al tumorilor maligne, în monitorizarea tratamentului și în evaluarea prognosticului.

Avantajul anticorpilor monoclonali în detectarea antigenelor tumorale circulante constă în înalta specificitate cu care aceștia se leagă de un singur determinant antigenic din întreaga moleculă de antigen. De exemplu: anticorpul monoclonal anti-CEA reacționează încrucișat și cu glicoproteinele normale nespecifice (NCA). Spre deosebire de aceștia, anticorpul monoclonal VII-23 face discriminare între CEA specific tumoral și NCA (Lombroso și colab. 1983).

Anticorpul monoclonal se utilizează și în decelarea antigenelor Ca evidențiate recent în numeroase tumori solide umane. (Magee și colab. 1982; Ashall și colab. 1982). Aceste antigene sînt de natură glico-lipidică (greutate moleculară 35 000 și 39 000) și pot fi decelate atît pe celulele canceroase, cît și în sînge sau în lichidul ascitic. Unii autori consideră că antigenele Ca reprezintă un veritabil marker pentru malignitate, excepție făcînd doar melanoamele, limfoamele, tumorile primitive ale SNC și ale organelor de reproducere.

În ultimii ani, în clinica oncologică se utilizează anticorpul monoclonal pentru decelarea unor antigene circulante specifice pentru diferite categorii de tumori (dcelare radio-imună sau imuno-enzimatică). De exemplu: anticorpul 19-9 preparat de colectivul condus de Koprowski (1979-80) dă reacții pozitive în 50% din cazurile de cancer de colon și 100% din cazurile de cancer gastric și pancreatic; anticorpul OC 125 dă reacții pozitive cu antigenul CA 125 al cancerului epitelial ovarian în 82% din cazurile cu tumori maligne ovarice față de 1% la persoanele sănătoase (Bast și colab. 1983)

2) Anticorpul monoclonal se utilizează în scop diagnostic și pentru evidențierea antigenelor existente pe celulele tumorale și care nu se exfoliază. De exemplu:

a) în leucemii și limfoame, pentru precizarea tipului de celule care proliferază malign și a stadiului în care diferențierea acestor celule este blocată. În acest scop se utilizează anticorpi monoclonali dirijați împotriva antigenelor de diferențiere ale liniei limfocitare T (OKT; unele Leu); ale liniei limfocitare B (B; BA); sau ale liniei mielocitare (OKM; unele Leu) etc. (Conference on Cell Markers in Acute Leukemia 1981; Thiel 1983, Bernard și colab. 1981; Han și colab. 1983; Barcos și colab. 1983);

b) în identificarea histologică a originii tumorii maligne la cazurile la care boala se manifestă clinic prin metastaze.

Pînă în prezent există o mare varietate de anticorpi monoclonali față de o serie de tumori maligne umane: cancere de colon, gastrice, pancreatice, mame, pulmonare, ovariene, prostatice, renale, melanoame, sarcoame osteoide, neuroblastoame, teratoame etc.

Antigenele tumorale specifice pot fi decelate pe preparate histologice din metastaze utilizînd anticorpi monoclonali cuplați cu substanțe fluorescente sau cu enzime (teste imuno-fluorescente sau imuno-enzimatice) (Burtin și Nardelli, 1983; Sorg și colab. 1983; Colcher și colab. 1983; August și Murphy 1983);

c) în diagnosticul *in vivo* al cancerelor reziduale, al metastazelor și recidivelor.

În acest scop se injectează i.v. anticorpi monoclonali specifici pentru tumoarea respectivă marcați cu un izotop radioactiv. Fixarea acestora la nivelul tumorii se decelează prin imunoscintigrafie sau prin tomoscintigrafie computerizată. În decelarea radioimună *in vivo* a tumorilor și/sau metastazelor se pot

folosi atât anticorpi monoclonali dirijați împotriva antigenelor tumorale solubile (exfoliate), cât și față de antigenele neexfoliate (Ballou și colab. 1979; Goldenberg și colab. 1980; 1981; Mach și colab. 1981, 1983; Chatal și colab. 1983; Colcher și colab. 1983; Hakomori, 1983, Baldwin și colab. 1983).

Descoperirea anticorpilor monoclonali deschide perspective largi pentru clinica oncologică, deoarece aplicabilitatea acestora se demonstrează utilă atât în diagnosticul tumorilor maligne, cât și în tratament. Ca în orice domeniu nou, speranțele sînt foarte mari. Trebuie însă menționat faptul că deja au fost evidențiate unele limite în utilizarea anticorpilor monoclonali. Impedimentele majore sînt determinate de lipsa de specificitate a antigenelor asociate tumorilor precum și de heterogenitatea acestora.

Lipsa specificității antigenelor tumorale este ilustrată de cercetările lui Sorg și colab. (1983), care au izolat 34 de tipuri de anticorpi monoclonali capabili să reacționeze cu linii de celule de melanom malign uman cultivate *in vitro*. Din acestea, numai 19 tipuri reacționează cu melanoamele umane proaspăt recoltate, dar chiar și ele prezintă reacții încrucișate extinse cu alte categorii de celule (fibroblaste embrionare, celule carcinoatoase, glioblastoame, teratoame etc). Numai 9 tipuri de anticorpi monoclonali dau reacții încrucișate restrînse și pot fi utilizate în diagnosticul melanoamelor.

Heterogenitatea antigenelor tumorale este demonstrată elocvent de cercetările lui Colcher și colab. (1983) care au preparat 4 tipuri de anticorpi monoclonali față de carcinoamele mamare umane (B72.3; B1.1; B6.2; B38.1). Testarea reactivității acestora față de 39 de tumori mamare a demonstrat diferențe individuale foarte pronunțate: 5 tumori au reacționat pozitiv cu toți anticorpii monoclonali; 4 au dat reacții negative la toate tipurile de anticorpi, iar restul au dat reacții pozitive cu unii din anticorpi și negative cu alții. În plus, pe secțiuni histologice s-a constatat că în cadrul aceleiași tumori, unele celule reacționează cu anticorpusul testat, iar altele nu.

Aceste rezultate reprezintă un argument în plus pentru instabilitatea clonei maligne de origine și pentru evoluția acesteia spre subclone celulare cu antigenicitate diferită.

Cu toate acestea, realizarea anticorpilor monoclonali reprezintă una din cele mai valoroase achiziții recente, atât pentru cercetare, cât și pentru clinica oncologică. Gama largă de aplicabilitate a acestora în scop diagnostic sau terapeutic se va extinde treptat datorită eforturilor care se depun pentru selecționarea anticorpilor monoclonali cu cele mai restrînse reacții încrucișate. Chiar și în condițiile actuale, anticorpii monoclonali reprezintă cel mai sensibil și fidel „reactiv” existent care, în plus, permite și standardizarea testelor de decelare imună a tumorilor maligne.

Rodica Rișcă; Monica Crișan

Bibliografie

- ASHALL F., BRAMWELL M. E., HARRIS H. — *Lancet*, 1982, 2, 1—6.
 AUGUST J. T., MURPHY T. — Applications of monoclonal antibodies to cancer biology, in „Accomplishments in Cancer Research” (sub red. Fortner J. G., Rhoads J. E.), J.B. Lippincott Co., Philadelphia — Toronto, 1983, p. 200—209.
 BALDWIN R. W., EMBLETON M. J., PIMM M. V. — *Bull. Cancer (Paris)*, 1983, 70, 132—136.
 BALLON B., LEVINE G., HAKALA T. R., SOLTER D. — *Science*, 1979, 206, 844—846.
 BARCOS M., OZER H., HENDERSON E., MINOWADA J. — Anti-T antibody reactivity in T and B-cell lymphomas, in „Non-HLA Antigens in Health, Aging and Malignancy”, Alan R. Liss, New York, 1983, p. 183—189.

- HAST R. C. Jr., KLUG T. L., ST. JOHN E. și colab. — *New Engl. J. Med.*, 1983, 309, 883—887.
- BERNARD A., BOUSELL L., REINHERZ E. L. și colab. — *Blood*, 1981, 57, 1 105.
- BURTIN P., NARDELLI J. — *Bull. Cancer (Paris)*, 1983, 70, 108—112.
- CHATAL J. E., BOURDOISEAU M., FUMOLEAU P. și colab. — *Bull. Cancer (Paris)*, 1983, 70, 103—107.
- GOLCHER D., HORAN HAND P., WUNDERLICH D. și colab. — Monoclonal antibodies to human mammary carcinoma associated antigens and their potential uses for diagnosis, prognosis and therapy, in „Immunodiagnosics“, Alan R. Liss, New York, 1983, p. 215—258.
- *** — Conference on Cell Markers in Acute Leukemia, *Cancer Res.*, 1981, 41, 4 750—1 863.
- GOLDENBERG D. M., KIM E. E., DeLAND F. H. și colab. — *Cancer Res.*, 1980, 40, 2 984—2 992.
- IIAKOMORI S. — *Bull. Cancer (Paris)* 1983, 70, 118—126.
- HAN T., MINOWADA J., OSLER H. — Monoclonal antibody-defined B-cell, T-cell and myelomonocytic leukemia and other surface determinants on leukemic B cells of chronic lymphocytic leukemia, in „Non-HLA Antigens in Health, Aging and Malignancy“, Alan R. Liss, New York, 1983, p. 135—144.
- HERLYN M., SEARS H., STEPLEWSKI Z., KOPROWSKI — *J. clin. Immunol.*, 1982, 2, 135—140.
- LOMBROSO J., BERCHE C., MACH J. P. și colab. — *Bull. Cancer (Paris)*, 1983, 70, 96—102.
- MAGEE J. O'D., WOODS J. C., ASHALL F. și colab. — *Lancet*, 1982, 2, 7—10.
- MARCH J. P., BUCHEGGER F., FORNI M. și colab. — *Immunology Today* 1981, 2, 239—249.
- SORG G., BRÜGGEN J., SUTER L., BRÖCKER E. B. — *Bull. Cancer (Paris)* 1983, 70 113—117.

28.

Vîrsta și cancerul

Dacă cercetările clasice asupra relației dintre vîrstă și cancer se bazau mai mult pe elemente epidemiologice analitice, axate pe statistică, cercetările moderne s-au orientat spre găsirea unor explicații cauzale între modificările biologice caracteristice vîrstelor (copilărie, tinerețe, perioada adultă și bătrînețe) și oncogeneza.

Există o bogată literatură asupra studiilor întreprinse; în SUA sectorul de cercetare a cancerului din Ministerul Sănătății coordonează un vast program de cercetări, în care sînt antrenate numeroase institute oncologice (vezi Oncology overview — Age related factors which may predispose to carcinogenesis — A service of the International Cancer Research Data Bank/ICRDB/August 1982). Numeroase studii s-au efectuat asupra relațiilor existente între îmbătrînire și cancer. Cercetările întreprinse pînă în prezent au permis individualizarea unor concluzii de etapă, pe care le vom prezenta foarte succint, indicînd și bibliografia ce poate fi consultată de cititor:

- 1) *Modificările genetice* induse de îmbătrînire sînt favorabile dezvoltării cancerului;
- 2) *Modificările hormonale* survenite în perioada de îmbătrînire pot facilita oncogeneza;
- 3) *Modificările metabolice* caracteristice îmbătrînirii devin favorizante pentru inducerea cancerelor;
- 4) *Modificările imunologice* ale îmbătrînirii pot explica apariția cancerelor.

(1) Modificările genetice induse de bătrânețe:

— Se admite că senescența celulară este un eveniment programat genetic și selectat prin evoluție (Dykhuizen 1974).

— La bătrâni se constată mai frecvent existența cromozomilor dicentrici și a rupturilor cromozomiale unice („single chromosome breaks”) și diviziunea prematură a centromerului (Vormittag, 1977).

— Îmbătrânirea induce numeroase forme de alterări ale ADN, care nu se mai pot „repara” deloc sau sînt reparate incomplet. Aceste modificări generează transcrierea eronată a codului genetic în ARN mesager. Se produc modificări ale membranelor celulare.

— Se înregistrează sintetizarea unor enzime calitativ inferioare sau chiar nefuncționale (Hart, 1976).

— Acumulările de lungă durată ale carcinogenilor chimici, fizici sau biologici ar influența ADN, creînd acele „defecte”, favorabile depresiei imunitare și oncogenezei (Oota, 1979).

Bibliografie

ALEXANDER P. — *Bull. Schweiz. Akad. med. Wiss.*, 1969, 21, 4, 258—271.

DYKHUIZEN D. — *Nature (Lond.)*, 1971, 231, 5 476, 616—618.

FRANKS L. M. — *Gerontology*, 1979, 25, 3, 163.

HART R. W. — *Role of DNA repair in aging. Aging, Carcinogenesis and Radiation Biology*, (sub red. Smith K. C.), Plenum Press, New York, 1976.

MAGEE P. N. — *Advanc. exp. Med. Biol.*, 1978, 97, 133—146.

VORMITTAG W. — *Acta med. austl.*, 1977, 4, 1, 1—5.

YOSHIDA T. H. — *J. cell. Biol.*, 1976, 70, 402 a.

(2) Modificări hormonale induse de bătrânețe:

— Gonadotrofinele hipofizare înregistrează valori crescute după menopauză și la un mare număr de bărbați după vîrsta de 60 ani (Bennett M., 1979) Alți hormoni în schimb (hormonii sexuali) scad apreciabil o dată cu îmbătrînirea (testosteronul, foliculina, luteina, corticoizii). Insulina scade de asemenea. Aceste modificări endocrine caracteristice bătrîneții au efect imunosupresor, fapt ce ar slăbi controlul imunologic asupra celulelor modificate prin mutații sau leziuni ale ADN și ar favoriza oncogeneza.

— Modificările endocrine pot fi provocate și de alterări ale hipotalamusului produse de îmbătrînire (Lancet, 1976).

— La bătrâni se înregistrează și un conținut scăzut de „chalone” în piele, fapt ce ar explica apariția mai frecventă a cancerelor cutanate la vîrstnici. Se cunoaște rolul protector anticanceros al chalonei.

(3) Modificări metabolice caracteristice bătrîneții:

— La bătrâni se înregistrează modificări metabolice ca: creșterea nivelului sangvin al acizilor grași liberi, colesterolului, trigliceridelor și lipoproteinelor. Aceste perturbări metabolice inhibă imunitatea celulară, putînd stimula oncogeneza (Dilman, 1978). Există o imunodepresie metabolică.

— Dacă se cultivă celule din epiteliul normal vezical al animalelor bătrîne (șoareci) tratate cu substanțe cancerigene, ele se malignizează *in vitro* mai repede decît celulele tinere de epiteliu vezical supuse aceluiași condiții (Franks, 1979).

Bibliografie

DEMOLE M. J. — *Fortschr. Med.*, 1977, 95, 29, 1 812—1 815.

FERNANDES G., WEST A., GOOD R. A. (Sloan-Kettering Inst., New York) — *Clin. Bull.*, 1979, 9, 3, 91—106.

HOCMAN G. — *Int. J. Biochem.*, 1979, 10, 11, 867—876.

(4) Modificări imunologice ce apar la bătrânețe:

— Imunitatea înregistrează un declin paralel cu îmbătrânirea. Principalul efect legat de vîrstă asupra imunității este scăderea funcției limfocitelor T (Yunis E.J., 1976). Deficiența imunitară ar împiedica organismul să distrugă celulele transformate prin mutații, fapt ce ar facilita „scăparea” celulelor deja malignizate (Alexander P., 1969).

— Matsuki S. et al. (1980) au efectuat cercetări pe 100 subiecți sănătoși, dar cu vîrste diferite (loturi de tineri, adulți și bătrîni). Autorii au constatat că pînă la 60 ani limfocitele T nu se modifică, dar după această vîrstă se înregistrează o scădere evidentă a lor (la tineri 1346 ± 61 limfocite T, la bătrîni 1075 ± 102 limfocite T).

I. Chiricuță

Bibliografie

BENNETT M. — *Environ Health Perspect.* (Boston), 1979, 29, 17—22.

BURNET F. M. — Immunology, aging and cancer: medical aspects of mutation and selection, W. H. Freeman, San Francisco, 1976, p. 162.

DILMAN W. M. — *Mech Ageing Dev.*, 1978, 8, 153—173.

KENT S. — *Geriatrics*, 1977, 32, 11, 113—114.

YUNIS E. J., LANE M. A. — *J. invest. Derm.*, 1979, 73 (1), 24—28.

YUNIS E. J., FERNANDES G. și colab. — *J. Amer. Geriatr. Soc.*, 1976, 24, 6, 258—263.

* * * — *Lancet*, 1976, i, 7 951, 131—132.



Acest tratat de cancerologie, conceput în 2 volume (vol. I. „Cancerologie generală”; vol. II „Cancerologie clinică”) prezintă stadiul modern (de ultimă oră, am putea spune) al conceptului de boală canceroasă.

Profesorul Chiricuță, care de 40 ani se preocupă asiduu de această problemă, împreună cu echipa sa de valoroși cercetători și medici ai Institutului Oncologic din Cluj-Napoca, instituție care se bucură de un înalt prestigiu științific în acest domeniu al medicinei, și-au asumat această sarcină grea, dar pasionantă, de a prezenta critic ultimele cercetări, ce permit reevaluarea întregii probleme a cancerului, printr-o optică modernă.

Tratatul interesează întreg corpul medical (inclusiv studenții în medicină) și numeroși specialiști din diferite domenii ale biologiei (medici veterinari, biofizicieni, biologi etc.).

Lucrarea umple un gol greu resimțit în literatura medicală românească. Ea va constitui un ghid prețios pentru cei ce tratează boala și se preocupă de organizarea luptei anticanceroase în țara noastră.